

УДК 664.8.037.1

Влияние обработки цитрусовых плодов кlementинов биопрепаратами на физиолого-биохимические процессы и показатели качества при их холодильном хранении

Д-р техн. наук **В.С. Колодязная**, kvs_holod@mail.ru
аспирант **М.С. Булькран**, bmohamedsaid@yahoo.fr.

Университет ИТМО
191002, Россия, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9

*Цитрусовые плоды, в том числе кlementины, не пригодны для длительного хранения в свежем виде даже при низких положительных температурах, так как поражаются психрофильными микроорганизмами. Для снижения потерь от микробальной порчи рекомендуются различные дополнительные к холоду физико-химические и биологические средства. Перспективным научным направлением в настоящее время является применение бактерий-антагонистов в технологии выращивания и хранения плодоовощной продукции. В статье приведены результаты исследований по влиянию обработки цитрусовых плодов кlementинов биопрепаратами на основе бактерий – антагонистов родов *Pseudomonas* и *Bacillus*. Установлены зависимости изменения интенсивности дыхания, содержания органических кислот, восстановленной формы аскорбиновой кислоты, моно и-дисахаридов в цитрусовых плодах кlementинов сорта Рокамора от типа биопрепаратов и продолжительности их хранения. Показано, что обработка плодов биопрепаратами замедляет физиолого-биохимические процессы и, как следствие, максимально сохраняет пищевые и биологически активные вещества при пролонгированных сроках хранения. Для длительного хранения кlementинов, сохранения их качества и пищевой ценности рекомендуется обработка плодов биопрепаратом на основе бактерий-антагонистов *Pseudomonas asplenii*, штамм RF134 Н.*

Ключевые слова: кlementины; биопрепараты; холодильное хранение; показатели качества; интенсивность дыхания; органические кислоты; моно- и дисахариды.

Effect of treatment of citrus fruits clementines by biopreparations on physiological and biochemical processes and indicators of quality in their refrigerated storage

D.Sc. **V.S. Kolodiaznaia**, kvs_holod@mail.ru
M.S. Boulkrane, bmohamedsaid@yahoo.fr

ITMO University
191002, Russia, St. Petersburg, Lomonosov str., 9

*Citrus fruits including Clementines, are not suitable for long-term storage in fresh state even at low positive temperatures, also they affected by psychrophilic microorganisms. To reduce losses from microbial spoilage recommended various additional to cold physico-chemical and biological means. Currently promising scientific directions is to using bacteria-antagonists in the technology of cultivation and storage of fruits and vegetables. In the article shows results of study the treatment effect on citrus fruits clementines by bio-preparations based on bacterial antagonists genus *Pseudomonas* and *Bacillus*. The dependence of the respiration rate, organic acid content, the reduced form of ascorbic acid, mono-and-disaccharides in citrus fruits clementines Rocamora varieties, on the type of biopreparation and the duration of their storage. It is shown that treatment with biopreparations fruit slows down the physiological and biochemical processes and, as a consequence, the maximum keeps food and biologically active substances during prolonged storage periods. For long-term storage of clementines, preserve their quality and nutritional value of fruits is recommended biologic treatment on the basis of bacteria-antagonists *Pseudomonas asplenii*.*

Keywords: clementine; biopreparations; cold storage; quality indicators; respiration rate; organic acids; mono- and disaccharides.

Введение

Цитрусовые плоды клементины являются гибридом мандарина и горького севильского апельсина, выведены в 1902 году в Алжире Пьером Клементом. Плоды по форме напоминают мандарины и относятся к легко очищающимся (Easypeeler). Клементины произрастают в основном в странах Средиземноморья, в том числе в Алжире [1–3].

Они отличаются высоким содержанием биологически активных веществ, прежде всего аскорбиновой кислоты, каротиноидов, макро- и микроэлементов и биофлавоноидов [4–6]. Плоды являются благоприятной средой для развития микроорганизмов. Однако сохранение клементинов в свежем виде даже при низких положительных температурах представляет определенные трудности, связанные с поражением плодов фитопатогенными микроорганизмами. Для снижения потерь от микробиальной порчи рекомендуются различные дополнительные к холоду средства: ультрафиолетовое и радиационное облучение, озонирование, химические препараты, регулируемые и модифицированные газовые среды [7]. Все перечисленные средства не лишены недостатков. Перспективным научным направлением в настоящее время является применение бактерий-антагонистов в технологии выращивания и хранения сельскохозяйственной продукции [8–10]. Большое значение при хранении плодов, в частности, клементинов имеет выбор рода, вида и штамма бактерий-антагонистов, обладающих антимикробными свойствами.

Цель работы – исследовать влияние обработки цитрусовых плодов клементинов биопрепаратами на основе бактерий-антагонистов родов *Bacillus* и *Pseudomonas* на физиолого-биохимические процессы и показатели качества при их холодильном хранении.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования выбраны:

- перспективный сорт клементинов *Rosamora* (Рокамора), выращенный в Алжире (урожай декабрь 2013 г), и доставленный в Санкт-Петербург самолетом;
- в качестве биопрепаратов использована культуральная жидкость (КЖ), титр которой составлял 10^8 – 10^9 кл/мл;
- культуральная жидкость (КЖ1) содержит грамположительные аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus subtilis*, штамм Ч13 и продукты их метаболизма;
- культуральная жидкость (КЖ2) содержит грамположительные аэробные спорообразующие бактерии *Pseudomonas asplenii* штамм RF134H и продукты их метаболизма.

Научные исследования по получению и применению биопрепаратов в технологии холодильного хранения растительной продукции проводятся совместно с ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии.

Перед закладкой на хранение опытные партии плодов обрабатывали биопрепаратами путем погружения в КЖ. Контролем служили образцы без предварительной обработки. Контрольные и опытные плоды хранили при температуре $(3 \pm 1)^\circ\text{C}$. В начале и в процессе хранения плодов периодически определяли интенсивность дыхания, содержание органических кислот, аскорбиновой кислоты, моно- и дисахаридов и убыль массы.

Интенсивность дыхания определяли скорректированным титрометрическим методом по выделению диоксида углерода [11].

Для определения органических кислот, моно- и дисахаридов в плодах клементинов при холодильном хранении использовали методику пробоподготовки, разработанную в отделе биохимии и молекулярной биологии ВНИИР им. Н. И. Вавилова. Качественное и количественное изучение органических кислот, моно- и дисахаридов, проводили в этом отделе с помощью газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ГЖХМС) на хроматографе «Agilent 6850» (США), используя капиллярную колонку HP-5MS 5% фенилметилполисилоксана (30,0 м, 250 мкм, 0,25 мкм) и при скорости потока инертного газа (гелий) 0,5 мл/мин. Температура нагревания колонки была: начальная 130°C , конечная 250°C , скорость нагревания $4^\circ\text{C}/\text{мин}$. Температура детектора 250°C , температура инжектора 300°C , объем вводимой пробы — 1,0 мкл. Органические кислоты идентифицировали с применением электронной библиотеки [12].

Эксперименты проводили в трехкратной повторности. Данные обрабатывали методом математической статистики с нахождением доверительного интервала при вероятности 0,95 с использованием стандартных

компьютерных программ. В таблицах и на рисунках приведены средние арифметические значения изучаемых показателей.

Результаты и их обсуждение

Процесс дыхания является центральным звеном обмена веществ в любой биологической системе и является не только важнейшим источником энергии, используемой для осуществления разнообразных синтетических реакций и транспорта веществ, но и источником многочисленных метаболитов, которые образуются в качестве промежуточных продуктов дыхания и вместе с тем служат исходным материалом для осуществления синтетических реакций [13, 14].

На рис.1 приведены данные изменения интенсивности дыхания клементинов в зависимости от типа биопрепарата и продолжительности их хранения.

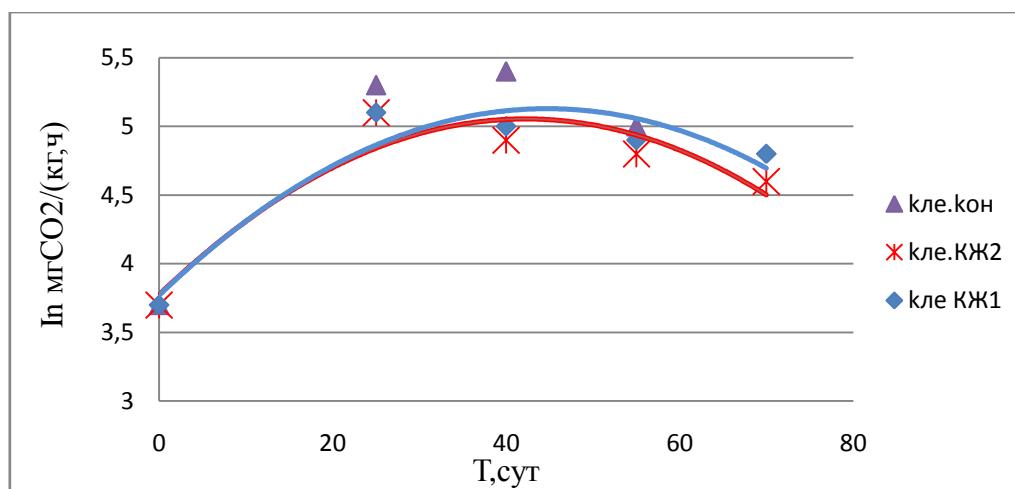


Рис. 1. Изменение интенсивности дыхания (I_n) при хранении клементинов

Как следует из рис. 1, в процессе хранения интенсивность дыхания в необработанных образцах увеличивается и остается выше, чем в опытных образцах в течение 50–55 сут. хранения. При последующем хранении контрольных плодов интенсивность дыхания снижается, что можно объяснить реакцией декарбоксилирования органических кислот и преобладанию анаэробного дыхания.

Не установлено существенных различий по интенсивности дыхания для плодов, обработанных (КЖ1) и (КЖ2). Снижение этого показателя при хранении опытных образцов возможно, связано с подавлением активности дегидрогеназ и цитохромоксидаз.

При хранении клементинов, существенным изменениям подвергаются углеводы, и прежде всего, моно- и дисахариды – основные субстраты дыхания (рис 2). Как следует из данного рисунка, содержание углеводов уменьшается как в контрольных, так и в опытных образцах. Минимальное снижение углеводов отмечено в плодах, обработанных биопрепаратами.

В таблице приведены данные по содержанию органических кислот в цитрусовых плодах клементинов в пересчете на сухое вещество. В этих плодах содержатся 17 органических кислот, из которых преобладают лимонная, молочная, яблочная, хинная и глюконовая кислоты.

На рис.3 показано изменение содержания суммы органических кислот при хранении клементинов. Как видно на данном рисунке, максимальное снижение этого показателя отмечено в плодах, обработанных (КЖ1) и в контроле, а минимальное – в плодах, обработанных (КЖ2).

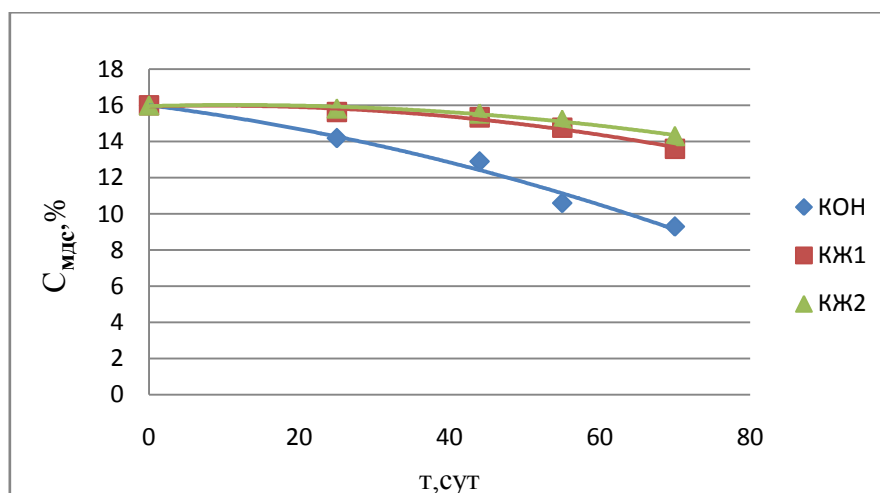


Рис. 2. Кинетические кривые изменения содержания суммы моно- и дисахаридов ($C_{мдс}$) при хранении клементинов

Содержание органических кислот ($C_{ок}$) в плодах клементинов перед хранением

Наименование органических кислот	$C_{ок}$, мг/100г
Молочная кислот	6,60±0,2
Глицериновая кислот	3,6±0,1
Щавелевая	0,30±,01
Яблочная	358±8,0
Перовиноградная	0,60±0,03
Эритроновая	2,2±0,1
Бензойная	0,20±,001
Никотиновая	0,20±0,01
Цитрокониновая	42,0±1,4
Глюконовая	8,9±0,4
Фталевая	4,2±0,2
Аконитовая	0,9±0,03
Лимонная	414±2,3
Галактурононовая	952±8
Винная	1,10±0,08
Сахарная	2,40±0,1
Хинная	21,30±1,1

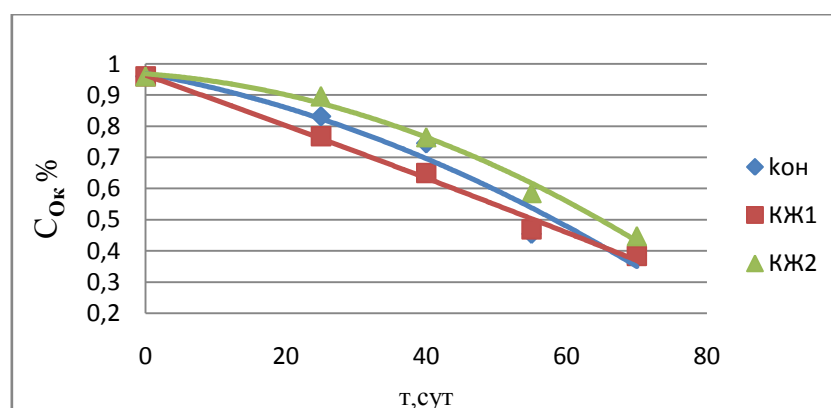


Рис. 3. Кинетические кривые изменения содержания суммы органических кислот при хранении клементинов

Полученные зависимости изменения содержания органических кислот при хранении плодов аппроксимированы следующими уравнениями:

$$C_{Oк} = -9^E - 05 \tau^2 - 0,0016\tau + 0,968; \quad R^2 = 0,9899 - \text{КЖ2}$$

$$C_{Oк} = -8^E - 06 \tau^2 - 0,008\tau + 0,964; \quad R^2 = 0,9919 - \text{КЖ1}$$

$$C_{Oк} = -7^E - 05\tau^2 - 0,004\tau + 0,969; \quad R^2 = 0,9565 - \text{Контроль}$$

Как следует из рис .4, в процессе хранения клементинов содержание аскорбиновой кислоты уменьшается как в контрольных, так и в опытных образцах. Максимальное количество этой кислоты сохраняется в плодах, обработанных биопрепаратом КЖ2 при хранении в течение 70 сут.

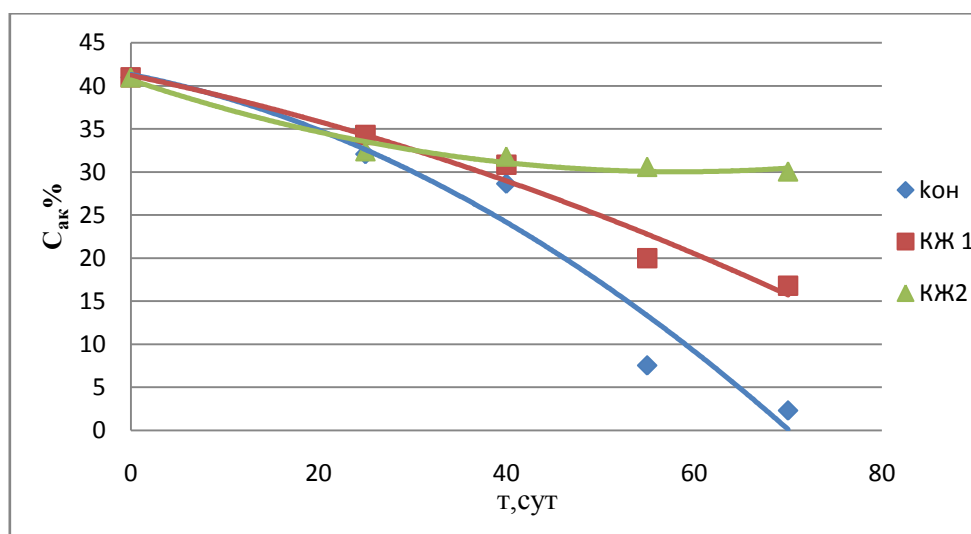


Рис. 4. Кинетические кривые изменения содержания аскорбиновой кислоты (C_{ак}) при хранении плодов

Полученные зависимости изменения содержания аскорбиновой кислоты при хранении плодов аппроксимированы следующими уравнениями:

$$C_{ак} = 0,0031 \tau^2 - 0,364 \tau + 40,69; \quad R^2 = 0,9721 - \text{КЖ2}$$

$$C_{ак} = -0,0019 \tau^2 - 0,229 \tau + 41,23; \quad R^2 = 0,9692 - \text{КЖ1}$$

$$C_{ак} = -0,0053\tau^2 - 0,216 \tau + 41,34; \quad R^2 = 0,9466 - \text{контроль}$$

В процессе хранения опытных и контрольных образцов за счет испарения влаги и расхода моно- и дисахаридов и органических кислот на дыхание происходит убыль массы плодов ,которая зависит от продолжительности и условий хранения, что показано на рис.5.

Полученные зависимости изменения убыль массы при хранении плодов аппроксимированы следующими уравнениями:

$$M = 0,098\tau; \quad R^2 = 1 \text{ контроль}$$

$$M = 0,0009 \tau^2 + 0,0148\tau - 0,0499; \quad R^2 = 0,9971 (\text{КЖ2})$$

$$M = 0,0007\tau^2 + 0,0384\tau + 0,0477; \quad R^2 = 0,9949 (\text{КЖ1})$$

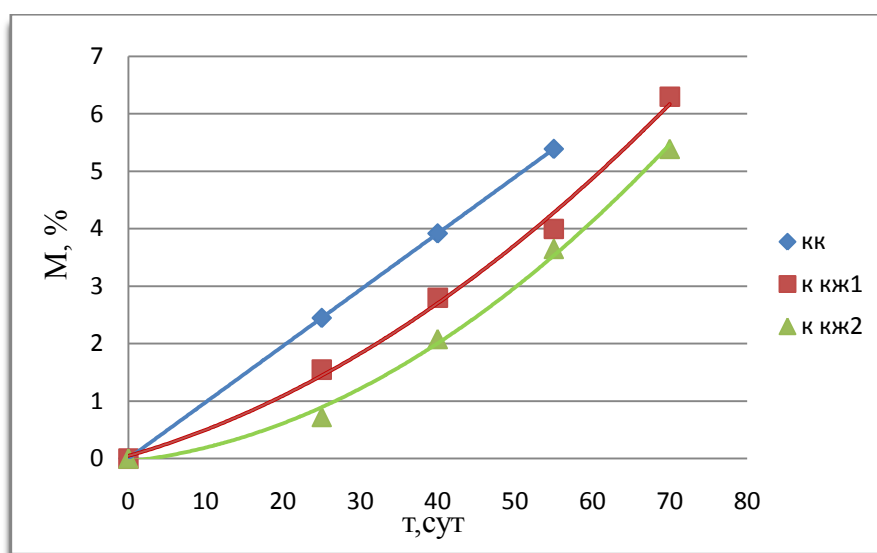


Рис. 5. Изменение убыли массы плодов (М) при холодильном хранении плодов клементинов

Как следует из данного рисунка, в плодах клементинов, обработанных биопрепаратами КЖ1 и КЖ2, за 70 сут. хранения убыль массы составила 6,4 и 5,2% соответственно, в контрольных образцах при хранении плодов в течение 55 сут – 5,6%. Снижение убыли массы при хранении опытных образцов можно объяснить замедлением скорости физиолого-биохимических процессов под действием продуктов метаболизма бактерий-антагонистов.

Выводы

Установлены зависимости изменения интенсивности дыхания, содержания органических кислот, восстановленной формы аскорбиновой кислоты, моно- и дисахаридов в цитрусовых плодах клементинов сорта Клеменвила от типа биопрепаратов и продолжительности их хранения.

Показано, что обработка плодов биопрепаратами замедляет физиолого-биохимические процессы и, как следствие, максимально сохраняет пищевые и биологически активные вещества при пролонгированных сроках хранения.

Для длительного хранения клементинов, сохранения их качества и пищевой ценности рекомендуется обработка плодов биопрепаратом на основе бактерий-антагонистов *Pseudomonas asplenii* штамм RF134-Н.

Литература (References)

1. Milind S. Ladaniya. *Citrus fruit biology, technology and evaluation*. London WC1X 8RR, UK: Elsevier, 2008, pp. 1–4.
2. Khan IA. *Citrus Genetics, Breeding and Biotechnology*. CAB international, Cambridge, USA, 2007, pp. 19-45
3. Ларина Т.В. Тропические и субтропические плоды: справочник. М.: ДеЛи принт, 2002. 254 с. [Larina T.V. *Tropical and subtropical fruits*. Reference manual. M., DeLi print, 2002. 254 p].
4. Колодязная В.С., Булькран М.С. Пищевая ценность цитрусовых плодов клементинов, выращиваемых в Алжире // Материалы VI Международной научно-технической конференции «Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI веке» (Санкт-Петербург, 13–15 ноября 2013). СПб., 2013. С. 413–414. [Kolodyaznaya V.S., Bul'kran M.S. Nutrition value of citrus fruits of the clementines which are grown up in Algeria. Materialy VI Mezhdunarodnoi nauchno-tekhnicheskoi konferentsii «Nizkotemperaturnye i pishchevye tekhnologii v XXI veke» (St. Petersburg, 2013). pp. 413–414].
5. Topuz A., Topakci M., Canakci M., Akinci I., Ozdemir F. Physical and nutritional properties of four orange varieties. *J. Food Eng.* 2005, no. 66, pp. 519-523.
6. Karadeniz F. Main Organic Acid Distribution of Authentic Citrus Juices in Turkey. *Turk. J. Agric.* 2004, no. 28, pp. 267-271.

7. Ross R.T., Engeljohn D. Food irradiation in the United States: irradiation as a phytosanitary treatment for fresh fruits and vegetables and for the control of microorganisms in meat and poultry. *Radiat. Phy. Chem.* 2000, no. 57, pp. 211–214.
8. Lahlali R., Hamadi Y. El., Guilli M., Jijakli M.H. Efficacy assessment of *Pichia guilliermondii* strain Z1, a new biocontrol agent, against citrus blue mould in Morocco under the influence of temperature and relative humidity. *Biological Control*, 2011, no. 56, pp. 217–224.
9. Droby S. Improving quality and safety of fresh fruits and vegetables after harvest by the use of biocontrol agents and natural materials. *Acta Horticulturae*, 2006, no. 709, pp. 45–51.
10. Druvefors U., Jonsson N., Boysen M. E., Schnurer J. Efficacy of the biocontrol yeast *Pichia anomala* during long-term storage of moist feed grain under different oxygen and carbon dioxide regimens. *FEMS Yeast Resources*, 2002, no. 2, pp. 304–389.
11. Базарнова Ю.Г. Методы исследования свойств сырья и пищевых продуктов. СПб.: НИУ ИТМО. 2012. 76 с. [Bazarnova Yu.G. *Methods of research of properties of raw materials and foodstuff*. SPb., NIU ITMO, 2012, 76 p].
12. Самородова-Бианки Г.Б., Стрельцина С.А. Исследование биологически активных веществ плодовых культур. Л.: ВИР им. Н. И. Вавилова. 2009. 82 с. [Samorodova-Bianki G.B., Strel'tsina S. A. Research biological the active agents of fruit crops. L.: VIR im. N. I. Vavilova. 2009. 82 p].
13. Колодязная В. С., Булькран М.С. Кинетика реакций превращения органических кислот при холодильном хранении цитрусовых плодов Ортаник // Вестник Международной академии холода. 2014. № 4. [Kolodyaznaya V.S., Boulkrane M.S. Transformation's kinetic reaction of organic acids during the cold storage of Tangor (Ortanique). *Vestnik Mezhdunarodnoi akademii kholoda*. 2014, no. 4].
14. Щербаков В.Г и др. Биохимия. СПб.: ГИОРД, 2003. 440 с. [Shcherbakov V.G i dr. *Biochemistry*. SPb., GIORD, 2003. 440 p].