

НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ ЗАЩИТЫ ПЛОДОВ ЛИМОНА ПРИ ХРАНЕНИИ С ЭФИРНЫМИ МАСЛАМИ МЕТОДОМ *IN VIVO*

Джурахонзода Р.Дж - докторант PhD, ТАУ им. Ш. Шотемур,
Салимзода А.Ф. – д.с.-х.н., профессор, член-корреспондент ТАСХН

Ключевые слова: мята, лаванда, базилик, эфирное масло, *Penicillium digitatum*, *in vivo*.

ВВЕДЕНИЕ

Фрукты и овощи имеют особое пищевое значение для человека благодаря поступлению в организм витаминов, минералов, клетчатки, другими словами - фитонутриентов, легко усваиваемых организмом, поэтому большое значение имеют исследования, направленные на их длительное хранение без потери питательных свойств (Porat et al., 2018). Наиболее частым видом порчи в цитрусовых продуктах является химическая и микробиологическая порча, из-за высокого содержания воды в плодах лимона и ран, которые часто образуются в результате сбора и транспортировки. Это включает неферментативное потемнение, изменение цвета по другим причинам, потерю аскорбиновой кислоты, ухудшение вкуса и аромата и деградацию биоактивных принципов (Mditshwa et al., 2017), (Liu et al., 2017).

Использование эфирных масел (ЭМ) тимьяна, мяты, лемонграсса, мелиссы, орегано, смачных (Sivakumar and Bautista-Baños., 2014), (Simas et al., 2017), (Elshafie et al., 2015), (Acevedo-Fani et al., 2017) и т.п. является одним из инноваций в этой области. Противогрибковая активность ЭМ используется на протяжении столетий, и, в настоящее время, усилия по продвижению природных соединений в послеуборочном контроле, находят повышенный интерес к их возможному применению (Da Silva Vomfim et al., 2015), (Munhuweyi et al., 2017), (Calo et al., 2015). Целью данного исследования было (1) оценить эффективность эфирного масла мяты *Mentha piperita*, (ЭММ), эфирного масла базилика *Ocimum basilicum*, (ЭМБ) и эфирного масла лаванды, *Lavandula angustifolia*, (ЭМЛ) для противогрибковой эффективности для проверки противогрибкового эффекта *in vivo*, направленной на снижение грибкового распада в плодах лимона искусственной прививки *P. digitatum*, на основе эфирных свойств улутучивания масла. Наши исследования помогут разработать метод хранения лимонов в модифицированной атмосфере, основанной на использовании природных летучих соединений, аналогичный применяемому в настоящее время методу для свежесрезанных овощей (Oliveira et al., 2015), (Hussein et al., 2015)

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Растительные материалы, извлечение ЭМ, и анализ газовой хроматографии/массового спектрометрии (GC/MS)

Исследование проводилось с апреля по август 2018 года в Университете сельскохозяйственных наук и ветеринарной медицины Банат (Румыния). Свежие растительные материалы мяты (*Mentha piperita*), лаванды (*Lavandula angustifolia*) и базилика (*Ocimum basilicum*), принадлежащие семейству Яснотковые, были собраны с экспериментальных полей кафедры «Ароматических растений» факультета «Сельскохозяйственного» г. Тимишоара. Растения собирались в стадии полного цветения (июнь-июль), в солнечные дни с умеренным дефицитом воды, когда содержание эфирного масла является самым высоким (Calo et al., 2015). Образцы растений очищали, сушили в тени, измельчали, а затем хранили в темноте до использования для извлечения эфирного масла. Для этого применяли метод гидродистилляции с помощью аппарата Clevenger с использованием 300 г средней пробы досоора эфирного масла.

Химическая характеристика ЭМ проводилась с использованием газохроматографического оборудования с масс-спектрометром (GS/MS) Shimadzu QP 2010Plus с капиллярной колонкой с характеристиками: ATWAX 30 м X 0,32 мм X 1 мкм). В качестве газа-носителя использовался гелий со скоростью потока 1 мл / мин. Программа, используемая для разделения соединений: 40° C в течение 1 мин, скорость от 5° C / мин до 210° C в течение 5 мин. Температура инжектора и ионного источника составляла 250° C и 220° C, соответственно. Объем инъекции составил 1 мкл при соотношении 1:50. База данных NIST использовалась для идентификации летучих соединений.

Испытание паров эфирного масла для анализа порчи грибов лимона *in vivo*

Для хранения лимонов в атмосфере, обогащенной парами эфирных масел, использованы 10 контейнеров-осушителей объемом 2000 см³. Лимоны без химических обработок (экологические продукты) сорта «Верна», приобретенные в супермаркете, сначала промывали в растворе гипохлорита 9:1 (NaOCl), а затем трижды промывали в стерильной воде. После высыхания в стерильной нише лимоны были ранены пробковым сверлом диаметром 0,8 см и глубиной 0,5 мм, на каждой лимонной кожуре было нанесено по две раны. Раны были привиты споровой суспензией, содержащей 10⁵ спор / мл *P. digitatum*. Для каждого типа хранения паров эфирного масла использовались два лимона, и каждое масло испытывалось на две концентрации: (C1), соответствующей концентрации IC50, и (C2) половины значения IC50, см. табл. №1.

Таблица 1.

Количество ЭМ, используемых для исследования *in vivo* по хранению лимонов в модифицированной атмосфере

ЭМ (мкл)	IC 50 <i>in vitro</i> *	C1 <i>in vivo</i> **	C2 <i>in vivo</i> **
ЭММ	91,5	3600	1800
ЭМБ	23,3	930	470
ЭМЛ	43,4	1736	868

ЭММ - эфирное масло мяты; ЭМБ - базилик эфирное масло; ЭМЛ- Эфирное масло лаванды; * значения IC50 действует в течение 50 см³ Петри пространства; ** значения IC50 действителен в течение 2000 см³ эксикатор пространства.

Эфирное масло отсаживали на фильтровальную бумагу у основания эксикатора, а искусственно привитые лимоны помещали на решетку. Контейнеры осушителя были герметически закрыты и ставом их хранились на 22 + 2°, в темноте 7 дней.

РЕЗУЛЬТАТЫ

In vivo анализ инокулированных плодов лимонов при хранении в атмосфере паров ЭМ

После 7 дней хранения лимонов в атмосфере, обогащенной парами эфирного масла, было проведено измерение пораженного участка в месте инокуляции суспензии спор *P. digitatum*. Контрольный вариант без ЭМ зафиксировал наибольший диаметр распада грибка 47 ммØ. Это следует в следующем порядке: ЭМЛ 868, ЭММ 1800, ЭМБ 470, ЭММ 3600, ЭМБ 930 и ЭМЛ 1736 мкл при 16,9 ммØ (диаграмма 1.).

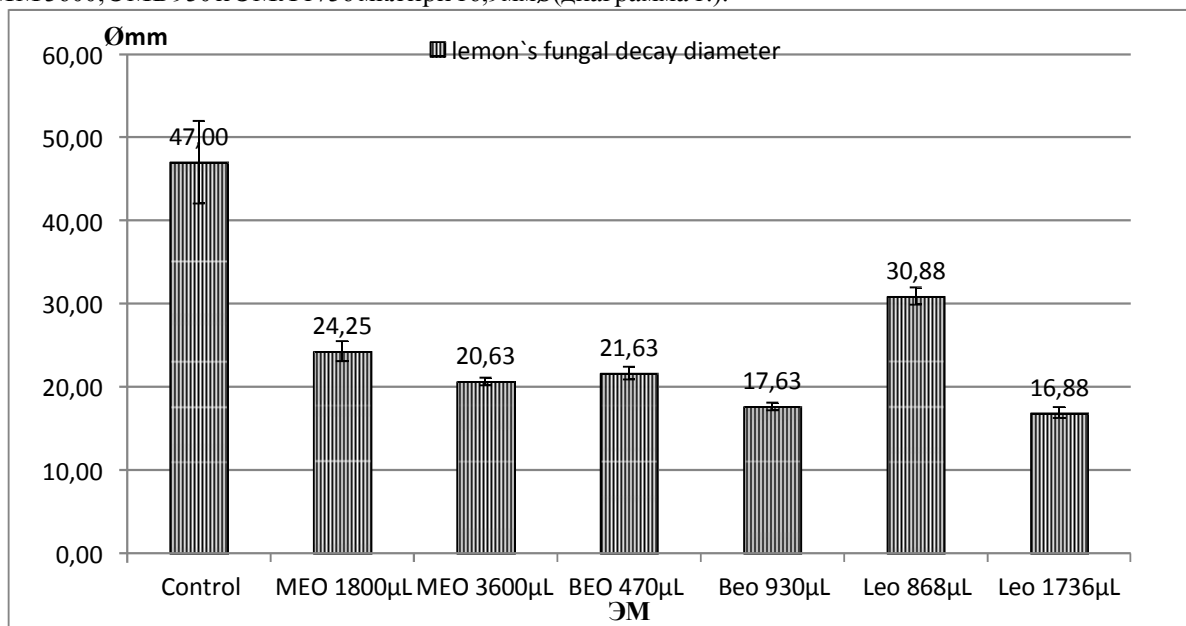


Диаграмма 1.- Результаты по изнашиванию плодов лимонов, хранящихся в модифицированной атмосфере и привитых *P digitatum*. Данные-диаметра зоны поражения грибковой роста и представлены как средняя ± СД (П = 4). Вертикальные полосы представляют собой стандартные отклонения.

При сравнении различий между средними значениями вариантов с помощью t-тест видно, что между ЭМБ 930 мкли ЭМЛ 1736 мкл, статистически не обеспеченных различий, табл. 2.

Таблица 2.

Выявление различий между вариантами обработки плодов лимона, после 7 дней хранения в присутствии паров ЭМ, проведен анализ t-теста

РЯД	Варианты ЭМ (мл)	Означать	ЭМЛ 1736	ЭМБ 930	ЭММ 3600	ЭМБ 470	ЭММ 1800	МЛ 868	Контроль
1	Контроль	47.0 ^a	30.1	29.4	26.4	25.4	22.8	16.1	
2	ЭМЛ 868	30.9 ^b	14.0	13.3	10.3	9.3	6.6		
3	ЭММ 1800	24.3 ^c	7.4	6.6	3.6	2.6			
4	ЭМБ 470	21.6 ^d	4.8	4.0	1.0				
5	ЭММ 3600	20.6 ^d	3.8	3.0					
6	ЭМБ 930	17.6 ^e	0.8						
7	ЭМЛ 1736	16.9 ^e							

* средние значения с разными буквами в надстрочном индексе показывают, что различия между ними статистически достоверны при $\alpha = 0,05$.

Тот же аспект отмечен для ЭМБ 470 мкл и ЭММ 3600 мкл. Наименьший эффект был зафиксирован для ЭМЛ 868 мкл, начиная со второго места после контрольного варианта противогрибкового действия.

ДИСКУССИЯ

Эфирные масла отличаются от других масел из-за присутствия некоторых летучих ароматических соединений, которые растения синтезируют в стрессовые моменты (Calo et al., 2015). Преимущественно антимикробный эффект эфирных масел обусловлен преобладающими соединениями эфирных масел, основанными на этом наблюдения, различают различные хемотипы в ароматических видах (Rota et al., 2008), (Calvo-Irabien., 2018), (Oxenham et al., 2005).

Эфирные масла, используемые в эксперименте, имеют широкий спектр составляющих, как качественно, так и количественно. Таким образом, линалоол, оксигенированное ациклическое монотерпеническое соединение с признанным противогрибковым действием, в основном содержится в ЭМБ (41,498%) и ЭМЛ (31,436). Кроме того, эстрагол из ЭМБ, известный как метил чавикол, является основным нетерпеноидным соединением (49,904%), который также обладает противогрибковой активностью (Oxeham et al., 2005). Свое присутствие в высокой пропорции, над значением линалоол, включает базилика, используемый в исследовании в хемотип эстрагола.

В случае ЭММ, поскольку минимальная фунгицидная концентрация (MFdC) не была достигнута, в дальнейшем необходимы исследования для определения фунгицидного эффекта ЭММ, для количества добавляемого масла более 400 мкл, что соответствует концентрации 0,008%. Хранение лимонов в обогащенной атмосфере ЭМ имеет то преимущество, что фрукты не находятся в прямом контакте с маслами, так как они действуют на грибы из-за их свойств улетучивания.

С экономической точки зрения, в соответствии с результатами, полученными в результате эксперимента, ЭМБ обладают лучшим противогрибковым действием, чем и ЭМЛ, и ЭММ, поскольку небольшое количество ЭМ понадобится при хранении лимонов в течение одного и того же периода времени.

ВЫВОД

Благодаря улетучивающимся свойствам, эфирные масла представляют собой естественный способ с высоким потенциалом для использования в сохранении или хранении экологически чистых фруктов и овощей в искусственных условиях. Синергизм природных масляных соединений обеспечивает их эффективность при противогрибковом действии. Кроме того, показатели качества и подлинности ЭМ имеют важное значение для обеспечения противомикробной защиты, связанной с грибковым разложением при послеуборочном хранении садоводческой продукции.

Литература

1. Acevedo-Fani A., Soliva-Fortuny R., Martín-Belloso O., 2017. Nanoemulsions as edible coatings. *Curr. Opin. Food Sci.* 15, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.06.002>
2. Calo J.R., Crandall P.G., O'Bryan C.A., Rieke S.C., 2015. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. *Food Control* 54, 111–119. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.040>
3. Calvo-Irabien L.M., 2018. Native Mexican aromatic flora and essential oils: Current research status, gaps in knowledge and agro-industrial potential. *Ind. Crops Prod.* 111, 807–822. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.11.044>
4. Da Silva Bomfim N., Nakassugi L.P., Faggion Pinheiro Oliveira J., Kohiyama C.Y., Mossini S.A.G., Grespan R., Nerilo S.B., Mallmann C.A., Alves Abreu Filho B., Machinski M., 2015. Antifungal activity and inhibition of fumonisin production by *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. *Food Chem.* 166. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.019>
5. Elshafie H.S., Mancini E., Camele I., Martino L. De, De Feo V., 2015. In vivo antifungal activity of two essential oils from Mediterranean plants against postharvest brown rot disease of peach fruit. *Ind. Crops Prod.* 66, 11–15. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.12.031>
6. Liu Y., Wang W., Zhou Y., Yao S., Deng L., Zeng K., 2017. Isolation, identification and in vitro screening of Chongqing orange yeasts for the biocontrol of *Penicillium digitatum* on citrus fruit. *Biol. Control.* <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.04.002>
7. Hussein Z., Caleb O.J., Opara U.L., 2015. Perforation-mediated modified atmosphere packaging of fresh and minimally processed produce – A review. *Food Packag. Shelf Life* 6, 7–20. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2015.08.003>
8. Mditshwa A., Magwaza L.S., Tesfay S.Z., Opara U.L., 2017. Postharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruits: A review. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.02.024>

АННОТАЦИЯ

ПЕШОМАДИ НАВОИДБАҲИ ФИЗИДИДЗАНБҮРУҒИИ ЛИМУҶАНГОМИНИГОХДОРҶОИСТИФОДА АЗ РАВҒАНИ ЭФИРӢ ДАР ШАРОИТИ IN VIVO

Дар мақолаи мазкур иқтидори зиддизанбӯруғии равғанҳои эфирӣ аз *Mentha piperita*, *Lavandula angustifolia* ва *Ocimum basilicum* бар муқобили афзоиши *Penicillium digitatum* мавриди тадқиқоти илмӣ қарор дода шудааст. Ҷи таърифи, аз натиҷаи ба даст омада маълум гардид, равғанҳои эфирӣ афзоиши занбӯруғро дар намуди тадқиқоти in vivo бо натиҷаи баланди *O. basilicum* ба таъхир гузошт.

Калидвожаҳо: нӯдина, лаванда, райхон, равғани эфирӣ, таххиси GC/MS, *Penicillium digitatum*, хусусияти зиддизанбӯруғӣ.

АННОТАЦИЯ

НОВЫЕ ПЕРСПЕКТИВЫ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ ЗАЩИТЫ ПЛОДОВ ЛИМОНА ПРИ ХРАНЕНИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ МЕТОДОМ IN VIVO

В данной статье представлены противогрибковые свойства трех эфирных масел *Mentha piperita*, *Lavandula angustifolia* и *Ocimum basilicum* против роста *Penicillium digitatum*. Результаты показали, что все эфирные масла ингибировали рост мицелия и плодоношение грибов в in vivo тест, причем наибольшую эффективность показал *Ocimum basilicum*.

Ключевые слова: мята, лаванда, базилик, эфирное масло, GC / MS анализ, *Penicillium digitatum*, противогрибковое действие.

ANNOTATION
NEW PERSPECTIVES IN ANTIFUNGAL PROTECTION OF LEMON FRUITS IN STORAGE USING ESSENTIAL OILS BY
IN VIVO METHOD

This article presents the antifungal capacities of three essential oils from *Mentha piperita*, *Lavandula angustifolia* and *Ocimum basilicum* against *Penicillium digitatum* growth. The results indicated that all essential oils inhibited the mycelial growth and fungal fructification in vivo test, with the highest efficacy displayed by *Ocimum basilicum*.

Keywords: *mint, lavender, basil, essential oil, GC/MS analysis, Penicillium digitatum, antifungal effect.*