

УДК 634.8:631.523:547.598:458.22:582.736

ПРИМЕНЕНИЕ АМИНОВЫХ СОЛЕЙ ГЛИЦИРРИЗИНОВОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ПОРЧИ ВИНОГРАДА В ПЕРИОД ХРАНЕНИЯ

© 2023 г. М. И. Шатирова^{1,*}, Р. А. Асадуллаев², Ш. Ф. Нагиева¹¹Институт полимерных материалов НАН Азербайджана
AZ5004 Сумгаит, ул. С. Вургуна, 124, Азербайджан²Научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия МСХ АР
AZ0118 Абишеронский район, пос. Мехдибад, ул. 20 января, Азербайджан

*E-mail: mshatirova@mail.ru

Поступила в редакцию 23.01.2023 г.

После доработки 28.02.2023 г.

Принята к публикации 16.03.2023 г.

Гнили различного происхождения составляют значительную часть потерь винограда как в вегетационный период, так и при длительном хранении. Наряду с традиционными методами, для предотвращения порчи винограда при хранении были испытаны экологически чистые препараты, сырьем для получения которых служили корни солодки (*Glycyrrhiza*). Соответствующие соли глицирризиновой кислоты были синтезированы взаимодействием глицирризиновой кислоты с *o*-фенилендиамином и метиловым эфиром *n*-аминобензойной кислоты в среде сухого ацетона. В качестве объекта исследования был выбран универсальный сорт винограда Молдова, и хранение осуществляли в холодильнике при температуре 5°C в течение 4 мес. Для предупреждения развития патогенной микрофлоры использовали гранулы метабисульфита натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) из расчета 20 г на 7–8 кг винограда и в такой же дозе гранулы *o*-фенилендиамина глицирризиновой кислоты 2 и метилового эфира *n*-аминобензойной кислоты 3, а также гранулы высушенного измельченного корня солодки. Выявлено, что при применении $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, для защиты от воздействия вредоносной микрофлоры потери ни от гниения, ни от отрыва ягод от гребня грозди не было, цвет и консистенция ягод остались такими же, как и при хранении. Эффективность испытанных препаратов при одинаковом способе применения была несколько меньше: в варианте с гранулами корня солодки потери составили более половины, с *o*-фенилендиамина глицирризиновой кислоты (соединение 2) – около половины продукта, с метиловым эфиром *n*-аминобензойной кислоты (соединение 3) выход стандартной продукции составил чуть более 70% заложенной на хранение партии.

Ключевые слова: виноград, длительное хранение, микробиологическая порча, аминовые соли глицирризиновой кислоты, противогрибковая и антибактериальная активность, методы защиты.

DOI: 10.31857/S000218812306011X, **EDN:** QPCPQI

ВВЕДЕНИЕ

Потери, вызванные порчей винограда, являются серьезной проблемой для производителей и торговли как до, так и после сбора урожая. В период хранения в холодильниках основными возбудителями выступают микроорганизмы, являющиеся представителями эпифитной микрофлоры. Микробиологическая порча, вызванная грибами и бактериями, составляет значительную часть потерь винограда при длительном хранении. Согласно исследованиям, потери и отходы на различных стадиях могут достигать 53% от производимого винограда [1, 2].

После сбора урожая в фруктах и овощах, в том числе в винограде, являющемся живым организмом, продолжают процессы диссимиляции (дыхания), и функция транспирации сохраняет-

ся. Интенсивность этих процессов зависит от сорта винограда, региона выращивания, примененной агротехники, степени вызревания и технологии хранения. По мере увеличения интенсивности биохимических процессов ускоряется ход глубоких и необратимых изменений, свидетельствующих о старении ягод. Снижается лежкость, портится внешний вид гроздей. Они постепенно размягчаются, теряют вкус и пищевую ценность, на них начинают развиваться различные микроорганизмы. Свойства кожицы ягоды – толщина, наличие воскового слоя – имеют большое значение в устойчивости винограда к микробиальному поражению. При нарушении целостности оболочки, путь микробам в глубокие слои тканей открывается.

Постоянный состав микрофлоры винограда в основном представлен грибами видов *Cladosporium herbarium*, *Aspergillus niger*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Mucor fresen*. Обычно порча начинается с развития плесневых грибов, т.к. кислая среда тканевого сока благодатна для них. На более поздней стадии бактерии также могут быть вовлечены в процесс порчи. Особенно интенсивно разрушение происходит при высоких температурах. В благоприятных условиях споры растут, образуя ростовые трубки, которые заражают кожицу здоровых ягод. Если таких условий нет, гриб образует мелкие черные плотные производные – склероции, которые могут долго храниться. Склероции развиваются во влажных условиях при высокой температуре и образуют конидии. При дождях, особенно при низких температурах, происходит резкое усиление болезни винограда. Чем плотнее гроздь, чем тоньше кожица, и чем больше загущена крона куста, тем опаснее становится заболевание [1, 3].

По мнению специалистов, эпифитная микрофлора разных сортов винограда схожа. При хранении после очередной дезинфекции количество микроорганизмов в воздухе резко снижается, а затем в период между дезинфекциями постепенно увеличивается.

Послеуборочная гниль в основном вызывается *Botrytis cinerea*; однако в зависимости от условий хранения другие патогены также могут вызывать повреждения. Необходим комплексный подход для предотвращения риска развития гнили. До сбора урожая профилактические действия сводятся в основном к мерам по предотвращению или снижению риска возникновения заражения, но не ограничиваются лишь применением фунгицидов. Аккуратное обращение при сборе и упаковке – ключевое требование для снижения порчи при хранении за счет минимизации повреждений и, в конечном счете, инфекций. После упаковки и во время хранения внимание следует сосредоточить на уменьшении возможности возникновения заражения и ограничении распространения гниения. В связи с этим соблюдение правильного режима хранения играет решающую роль. Химические и нехимические упаковочные материалы могут быть полезными для предотвращения порчи в течение периода хранения. Осуществление обработок SO_2 (способом фумигации, использованием подушечек с двойным высвобождением SO_2 , и т.п.) является неотъемлемой частью борьбы с гниением при среднесрочном и долгосрочном хранении. Правильный выбор материала, используемого при упаковке, особенно внутренней упаковки, имеет важное значение для со-

хранения качества винограда. В течение всего срока хранения каждую неделю проводят окуливание из расчета 0.5–1.5 г/м³ объема камеры. Фумигации обычно предшествует проверка для определения качества хранимой продукции [1, 2, 4].

Показатель лежкоспособности винограда при хранении определяется индивидуальными особенностями сорта, его устойчивости к болезням и вредителям, физиологическим нарушениям, механическим повреждениям и стрессовым факторам окружающей среды. Например, на возникновение и степень распространения микробиологических заболеваний влияет химический состав ягод – наличие дубильных веществ, красителей и других веществ из группы полифенолов. Срок хранения также во многом зависит от строения тканей мякоти и кожицы ягод, наличия воскового слоя. Чем плотнее кожица и ткани мякоти, тем труднее возбудителю или вредителю проникнуть внутрь ягоды и повредить ее. Защита ягод от потерь при хранении способствует выполнению всех агротехнических требований, постоянный фитосанитарный и токсикологический контроль почвы и насаждений, создание и поддержание оптимального состава газовой среды в камере хранения и ряд других мероприятий. Агротехнические факторы, такие как придание кустам оптимальной формы и нагрузки глазками, также оказывают важное влияние на успешное хранение винограда. С их помощью можно влиять на качество винограда и увеличивать срок его хранения [5, 6].

В период хранения фрукты и овощи “живут” за счет пластических и энергетических питательных веществ, которые они накапливают в течение вегетационного периода. В связи с этим основной принцип хранения продукции заключается в максимальном замедлении потребления питательных веществ самим объектом хранения. Интенсивность дыхания может существенно варьировать в зависимости от условий хранения, являясь объективным показателем скорости созревания, старения и в целом пригодности к хранению продукта разных видов и сортов. Традиционное хранение в холодильниках при температуре, близкой к 0°C, основано на возможности минимизировать интенсивность дыхания. В таких условиях замедляется перезревание продукта, а также подавляется активность фитопатогенной микрофлоры [7–9].

Как известно из литературы, глицирризиновая кислота, выделенная из состава очень распространенной в Азербайджане солодки сладкой (*Glycyrrhiza glabra*) [10], обладает широким спектром фармакологического действия, включая ан-

Таблица 1. Выход стандартной продукции при различных способах хранения винограда сорта Молдова

| Вариант, № | Препарат | Выход стандартной продукции, % | Сахаристость | | | | |
|------------|--|--------------------------------|------------------------------|---------|-----------------------------------|---------|------------|
| | | | при сборе, г/см ³ | OIV 505 | после хранения, г/см ³ | OIV 505 | прирост, % |
| 1 | Na ₂ S ₂ O ₅ (контроль) | 98 | ” | ” | 18.0 | 7 | 8.4 |
| 2 | Препарат 2 | 52.7 | 16.6 | 5 | 17.4 | 5 | 4.8 |
| 3 | Препарат 3 | 73.4 | ” | ” | 17.8 | 5 | 7.2 |
| 4 | Корень солодки | 44.6 | ” | ” | 17.5 | 5 | 4.9 |

тибактериальное, противомикробное, противовирусное, антиоксидантное, антидотное, спазмолитическое, фибронитическое, иммунотропное и др. благодаря вышеперечисленным качествам, солодка широко используется в медицинской практике в качестве лекарственных препаратов [8, 11–18]. Принимая во внимание вышесказанное, нами были синтезированы аминовые соли глицирризиновой кислоты, которые были испытаны для предотвращения порчи винограда в период хранения.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

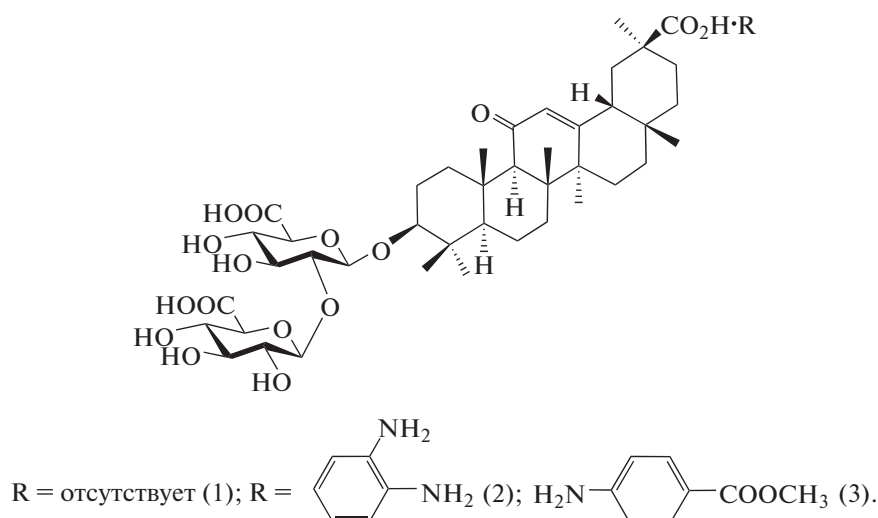
В качестве объекта исследования был выбран универсальный сорт винограда Молдова, выращенный в Абшеронской ампелографической коллекции научно-исследовательского института виноградарства и виноделия (НИИВиВ). Хранение осуществляли в холодильнике при температуре 5°С в течение 4 мес. Для предупреждения развития патогенной микрофлоры использовали гранулы метабисульфита натрия (Na₂S₂O₅) из расчета 20 г на 7–8 кг винограда; это классический способ предотвращения развития болезнетворной микрофлоры, основанный на бактерицидном и фунгицидном свойствах сернистого ангидрида; в такой же дозе гранулы *o*-фенилендиамина глицирризиновой кислоты (соединение 2) (вариант 2) и метилового эфира *n*-аминобензойной кислоты (соединение 3) (вариант 3), а также гранулы высушенных измельченных корней солодки (вариант 4). Препараты, представленные для испытаний Институтом полимеров НАНА [3], были синтезированы с использованием аминовых солей глицирризиновой кислоты по методике, описанной в литературе. По окончании срока хранения был проведен товарный анализ вино-

града, хранившегося разными способами, и определен выход стандартной продукции, а также определена степень повышения сахаристости ягод посредством лабораторного анализа и по методике, разработанной Международной организацией винограда и вина [19, 20].

Синтез аминосоелей глицирризиновой кислоты. После заливки эквимольярной глицирризиновой кислоты и соответствующих аминов в трехгорлую колбу емкостью 100 мл прибавляли 100 мл сухого ацетона и перемешивали реакционную массу в течение 25–30 мин при температуре 55–60°С. После вытеснения растворителя на водяной бане соли глицирризиновой кислоты переносили в вакуум и полностью очищали от ацетона. Соответственно получали 92–95% аминовых солей глицирризиновой кислоты. Строение синтезированных солей подтверждено данными элементного анализа, ИК- и УФ-спектров. В ИК-спектрах соединений 2, 3 наблюдали следующие полосы поглощения (ν , см⁻¹): 3700–3300 (ОН), 2995–287 (СН алифатические), 1760–1580 (С=О), 1270–1025 (К–О). В УФ-спектре соединений 2 и 3 наблюдались максимумы характеристических [нм (ε)] 250 (8000) полос поглощения.

Характеристика *o*-фенилендиаминовой соли глицирризиновой кислоты (соединение 2): выход – 92%, $T_{пл}$ – 216°С. Найдено, %: С – 62.36, Н – 7.79, N – 2.76. Общая формула – C₄₈H₇₀N₂O₁₆. Вычислено, %: С – 61.92, Н – 7.58, N – 3.01.

Характеристика соли метилового эфира *n*-аминобензойной кислоты глицирризиновой кислоты (соединение 3): выход – 95%, $T_{пл}$ – 179°С. Найдено, %: С – 65.81, Н – 7.68, N – 1.43. Общая формула – C₅₀H₇₁O₁₈N. Вычислено, %: С – 66.60, Н – 7.90, N – 1.56. Структурная формула соединений имеет вид:



РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты эксперимента приведены в табл. 1. Показано, что в варианте, где для защиты от воздействия вредоносной микрофлоры применяли $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, потеря ни от гниения, ни от отрыва ягод от гребня грозди практически не было отмечено, цвет и консистенция ягод остались такими же, как и при хранении. Хотя цвет гребня грозди немного изменился, он остался на уровне, характерном для свежего винограда (рис. 1). Что касается испытанных препаратов, то при одинаковом применении в варианте с применением гранул сушеного корня солодки потери составили более половины, в варианте 2 – около половины продукции, а в варианте 3 выход стандартной продукции составил более 70% заложенной на хранение партии. В многочисленных источниках [2, 4,

7] отмечено, что сахаристость винограда увеличивается при хранении. В наших исследованиях сахаристость винограда увеличилась на 4.8–11.2% во всех вариантах. Наименьшее увеличение зафиксировано в варианте 2, что еще раз подтвердило информацию многочисленных литературных источников о том, что стабильность при хранении прямо пропорциональна увеличению содержания сахара в течение срока хранения. Результаты проведенного исследования еще раз подтвердили высокую эффективность применения серы для предотвращения развития патогенной микрофлоры при длительном хранении винограда. Учитывая экологическую чистоту новых препаратов, видится целесообразным продолжение их испытания, особенно варианта 3 (метилового эфира *n*-аминобензойной кислоты), с целью

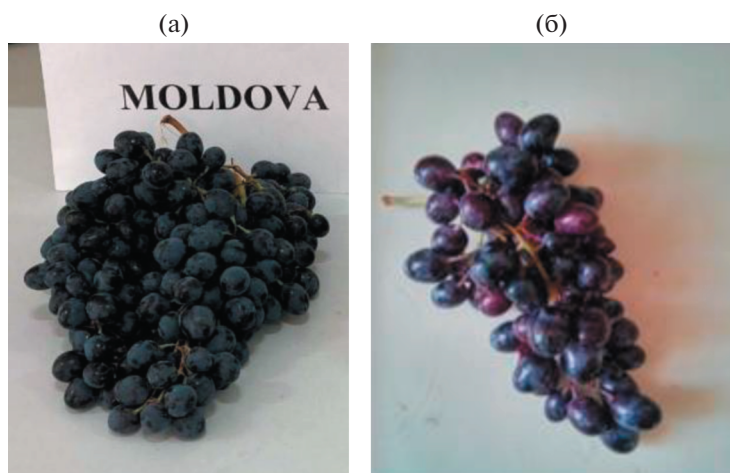


Рис. 1. Вид виноградной грозди после хранения: (а) – $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ (контроль). (б) – вариант 3.

определения оптимальной дозы и повторности применения.

ВЫВОДЫ

1. Взаимодействием глицирризиновой кислоты (выделенной из распространенной в Азербайджане солодки сладкой) с *o*-фенилендиамином и метиловым эфиром *n*-аминобензойной кислоты в среде сухого ацетона были синтезированы соответствующие соли глицирризиновой кислоты с высокими выходами (92–95%).

2. Синтезированные препараты, Na₂S₂O₅ и гранулы высушенного корня солодки были испытаны с целью предотвращения порчи винограда в период его хранения. Выявлено, что при использовании Na₂S₂O₅ цвет и консистенция ягод остались такими же, как и при хранении, хотя цвет гребня грозди немного изменился. При использовании препаратов 2, 3 и глицирризиновой кислоты, выделенной из солодки сладкой, при одинаковом применении в варианте 4 терялось больше, в варианте 2 – около половины продукта, а в варианте 3 выход стандартной продукции составил >70% заложенной на хранение партии. Проведенные испытания препаратов в качестве противогрибковых и антибактериальных средств показали перспективность этих экологически чистых соединений для снижения потерь при хранении винограда.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Асадуллаев Р.А. Развитие микрофлоры винограда при хранении // Азербайджан. сел.-хоз. наука. 2011. № 4. С. 93–95.
2. Ярмилка В.Б. Современные способы хранения плодов, овощей, ягод и винограда // Агроновость. 2010. С. 21–24.
3. Салимов В.С., Нураддинова Х.К. Опасные болезни и вредители винограда (рекомендации для фермеров). Баку; Изд-во “Сапфир-15”, 2021. С. 26.
4. Roberto S., Junior O., Muhlbeier D., Koyama R., Ahmed S., Dominguez A. Post-harvest conservation of “Benitaka” table grapes with different SO₂-generating pads and plastic liners under cold storage // BIO Web Conf. 2019. V. 15. doi.org/
<https://doi.org/10.1051/bioconf/20191501003>
5. Raj K.A., Parthiban S., Subbiath A., Sangeetha V. Effect of severity of pruning on yield and quality characters of Grapes (*Vitis vinifera* L.): A Review // Inter. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci. 2017. V. 6. № 4. P. 818–835
<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.604.103>
6. Tangolar S., Tarım G., Kelebek H., Tangolar S.G., Topçu S. The effects of bud load and regulated deficit irrigation on sugar, organic acid, phenolic compounds and antioxidant activity of Razaki table grape berries.
<https://doi.org/10.1051/bioconf/20150501002>
7. Кушнерева Е.В., Гугучкина Т.И., Панкин М.И., Агеева Н.М. Изменение концентрации сахара и органических кислот в процессе созревания виноградной ягоды // Изв. вуз. Пищ. технол. 2012. № 1. С. 34–36.
8. Рясенский Д.С., Асеев А.В., Эльгали А.И. Влияние глицирризиновой кислоты на состояние мембранных структур мононуклеаров у больших туберкулезом легких на фоне противотуберкулезной химиотерапии // Туберкулез и болезни легких. 2018. Т. 96. № 10. С. 35–40.
<https://doi.org/10.21292/2075-1230-2018-96-10-35-40>
9. de la Fuente Lioreda M., Novello V., Romanazzi G., Altindisli A. Alternatives to sulphites and another preservatives for table and dried grapes OIV publications. 1st ed. 2017. ISBN 979-10-91799-78-2
10. Амирова Г.С. Солодка в Азербайджане. Баку: Элм, 1993. С. 103.
11. Дикусар Е.А., Поткин В.И., Козлов Н.Г., Гаджилов Р.А., Тлеганов Р.Т., Ювченко А.П., Желдакова Р.А. Синтез и изучение фунгицидной активности аминных солей глицирризиновой кислоты // Хим. растит. сырья. 2011. № 4. С. 53–56.
12. Яковичин Л.А., Грошковец В.И., Корж Е.Н. Супрамолекулярный комплекс моноаммониевой соли глицирризиновой кислоты (глицирамин) с аргинином и глицином // Уч. зап. Крым. фед. ун-та им. В.И. Вернадского. Биол. Хим. 2014. Т. 27. № 66. С. 131–137.
13. Azani N., Babineau M., Bailey C.D., Banks H., Barbosa A., Pinto R.B., Boatwright J., Borges L., Brown G., Kite G.C. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny – The Legume Phylogeny Working Group (LPWG) (ing.) // Taxon: Official News Bulletin of the International Society for Plant Taxonomy Utrecht: International Association for Plant Taxonomy, Wiley. 2017. V. 66. № 1. P. 44–77. DOI:
<https://doi.org/10.12705/661.3>
14. Baltina L., Kondratenko R., Baltina L. A.Jr., Plyasunova O.A., Pokrovskii A.G., Tolstikov G.A. Prospects for the creation of new antiviral drugs based on glycyrrhizic acid and its derivatives (a review) // Pharmaceut. Chem. J. 2009. V. 43. № 10. Art. 348. P. 539–548.
15. Graebin C.S. The pharmacological activities of glycyrrhizic acid (“Glycyrrhizin”) and glycyrrhetic acid // Referen. Ser. Phytochem. Berlin, Germany: Nature Publishing Group, 2018. P. 245–261.
16. Ibtisam S.A., Mohamed E., Mabrouk El., Saad A., Mohamed M.A.-D. The protective effects of 18β-glycyrrhetic acid against acrylamide-induced cellular damage in diabetic rats // Environ. Sci. Pollut. Res. 2021. V. 28. № 41. P. 58322–58330.
<https://doi.org/10.1007/s11356-021-14742-4>
17. Richard S.A. Exploring the pivotal immunomodulatory and antiinflammatory potentials of glycyrrhizic and glycyrrhetic acids // Mediat. Inflammat. 2021.

- V. 2021. Art. ID 6699560.
<https://doi.org/10.1155/2021/6699560>
18. Yang Y.A., Tang W.J., Zhang X., Yuan J.W., Liu X.H., Zhu H.L. Synthesis, molecular docking and biological evaluation of glycyrrhizin analogs as anticancer agents targeting EGFR // *Molecules*. 2014. V. 19. № 5. P. 6368–6381.
<https://doi.org/10.3390/molecules19056368>
19. Салимов В.С. Ампелографический скрининг винограда. Баку; Изд-во “Муаллим”, 2019. С. 319.
20. OIV. Descriptor list for grape varieties and Vitis species (2nd edition). 2018. <http://www.oiv.int/en/technical-standards-and-documents/description-of-grape-varieties/oiv-descriptor-list-for-grape-varieties-and-vitis-species-2nd-edition>

Application of Amine Salts of Glycyrrhizic Acid for Prevention of Grape Rot during Storage Period

M. I. Shatirova^{a,#}, R. A. Asadullayev^b, and Sh. F. Nagiyeva^a

^a*Institute of Polymer Materials of Azerbaijan National Academy of Sciences
 AZ5004 Sumgait, S. Vurgun Str., 124, Azerbaijan*

^b*Azerbaijani Scientific Research Institute of Viticulture and Wine-making
 AZ0118 pos. Mekhdiabat, Absheron district, Str. January 20, Azerbaijan*

[#]*E-mail: mshatirova@mail.ru*

Rots of various origins account for a significant part of the losses of grapes both during the growing season and during long-term storage. Along with traditional methods, to prevent damage to grapes during storage, environmentally friendly preparations were tested, the raw materials for which were licorice roots (*Glycyrrhiza*). The corresponding salts of glycyrrhizic acid were synthesized by the interaction of glycyrrhizic acid with *o*-phenylenediamine and methyl ester of *p*-aminobenzoic acid in a medium of dry acetone. The universal grape variety Moldova was chosen as the object of the study, and the storage was carried out in a refrigerator at a temperature of 5°C for 4 months. To prevent the development of pathogenic microflora, granules of sodium metabisulfite (Na₂S₂O₅) were used at the rate of 20 g per 7–8 kg of grapes and in the same dose granules of *o*-phenylenediamine glycyrrhizic acid and methyl ether of *p*-aminobenzoic acid, as well as granules of dried crushed licorice root. It was revealed that when using Na₂S₂O₅, to protect against the effects of harmful microflora, there were no losses either from rotting or from tearing the berries from the crest of the bunch, the color and consistency of the berries remained the same as during storage. The effectiveness of the tested drugs with the same method of application was somewhat less: in the variant with licorice root granules, losses amounted to more than half, with *o*-phenylenediamine glycyrrhizic acid (compound 2) – about half of the product, with methyl ester of *p*-aminobenzoic acid (compound 3), the yield of standard products was slightly more than 70% of the batch stored.

Key words: grapes, long-term storage, microbiological spoilage, glycyrrhizic acid amine salts, antifungal and antibacterial activity, protection methods.