

**ВЛИЯНИЕ pH НА КИНЕТИКУ
ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ РЕАКЦИИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ
КАРТОФЕЛЯ НА ПОРАЖЕННОСТЬ БОЛЕЗНЯМИ**

Е. Ф. МАЛЫГИНА, И. В. ЭЛЬПЕРИН

Киевский ордена Трудового Красного Знамени технологический институт
пищевой промышленности

Пораженность клубней картофеля заболеваниями можно оценивать визуальным, серологическим, спектральным и др. методами. Оптические методы (фотоколориметрический, нефелометрический, рефрактометрический, поляриметрический) позволяют определять пораженность только на уровне визуального восприятия поражения (некротирование ткани, потемнение и т. д.). Более перспективен метод хемилюминесценции, в основе которого лежит изучение зависимости между интенсивностью, спектральным составом свечения и физико-химическими особенностями исследуемой системы [1, 2]. Известно применение хемилюминесцентного метода для контроля за изменениями химического состава, происходящими в картофеле при хранении [3]. Наши исследования показали невозможность применения хемилюминесцентной системы для определения фитопатогенного поражения картофеля вследствие незначительной разницы в уровнях свечения со здоровым и больным картофелем. Для такого определения мы разработали хемилюминесцентную модельную систему, включающую люминол + перекись водорода + бензидин. Цель этой работы — выяснить влияние pH люминола системы, вводимого глицинового буфера и степени разбавления картофельного сока на интенсивность и кинетику хемилюминесцентной реакции.

Исследования проводили в светонепроницаемой камере на изготовленной нами хемилюминесцентной установке. В качестве первичного преобразователя, преобразующего возникающую при протекании реакции световую энергию в электрическую, использовали фотоэлектронные умножители типа ФЭУ-39, ФЭУ-35, ФЭУ-51. Интенсивность возникающего свечения регистрировали в квантометрическом режиме (пересчетное устройство ГШ 9-2М, интегратор скорости счета ИСС-3 с последующей записью на потенциометре КСП-4) и током (цифровой вольтметр Ф204/1). Для анализа использовали сорта картофеля, выращенные в различных климатических условиях: опытном хозяйстве Немещаново Бородянского района Киевской обл., Русиновичи Минского района Минской обл. — Белорусский крахмалистый, Бородянский, Гатчинский, Лошицкий, Огонек. Приекульский ранний, Разваристый, Смачный, Сумской, Чаривныца, Темп. Клубни заражали популяцией фитотторы и расами 1.2.3.4, 1.3.3, 1.4 в лабораторных условиях по общепринятой методике. Степень пораженности оценивали в баллах визуальной оценки [4]. В качестве контроля использовали визуально здоровые клубни картофеля, предварительно отмытые в проточной воде, а также безвирусные клубни, полученные в Украинском научно-исследовательском институте картофельного хозяйства.

Установлено [5], что на характер протекания хемилюминесцентной реакции существенно влияет pH реакционной смеси, в частности, pH люминола. В связи с этим изучалось влияние различных величин pH люминола на систему и кинетику хемилюминесцентной реакции с це-

ью определения области рН вводимого в систему буферного раствора для стабильного протекания реакции, так как используемая нами хемилюминесцентная система представляет собой сложную химическую юдель, имеющую в составе компоненты с различными рН (люминол 1,0—12,5. бензидин 4,7), а также сок картофеля, характеризующийся Ысокой буферностью. Клубни картофеля, а следовательно, и получаемый из них сок, представляют собой сложную биологическую систему, 5 которой присутствуют как инициаторы хемилюминесцентной реакции (ферменты), так и ее ингибиторы (фенолы). Поэтому концентрация картофельного сока, т. е. степень его разбавления, также существенно влияет на характер протекания реакции.

Исследования проводили по следующей методике. Клубни картофеля измельчали на электросоковыжималке СВ-2, затем сок разбавляли дистиллированной водой, фильтровали через бумажный фильтр и анализировали. Измеряли уровень свечения для системы с одним и тем же соком, но при различных рН люминола. При этом регистрировали рН системы, величину максимума свечения и время его достижения. При изменении разбавления сока измеряли хемилюминесцентное свечение системы с одним и тем же рН люминола и буфера. В стеклянную тонкостенную кювету последовательно сливали компоненты хемилюминесцентной реакции: 2 мл $2,0 \cdot 10^{-4} M$ бензидина + 1 мл $1,8 \cdot 10^{-4} M$ люминола в 0,01 н ИаОН + 5 мл $5 \cdot 10^{-3} M$ перекиси водорода и добавляли 5 мл разбавленного сока картофеля. Смесь тщательно перемешивали и помещали в камеру хемилюминесцентной установки. Для удобства использования и последующего применения в автоматическом устройстве в хемилюминесцентную реакцию брали по 2 мл каждого из компонентов с концентрацией: $0,9 \cdot 10^{-4} M$ люминола; $2,0 \cdot 10^{-4} M$ бензидина; $1,8 \cdot 10^{-4} M$ перекиси водорода; 4 мл буферного раствора. В систему вводили глициновый буфер с рН 9,0 и выше для стабилизации протекания хемилюминесцентной реакции.

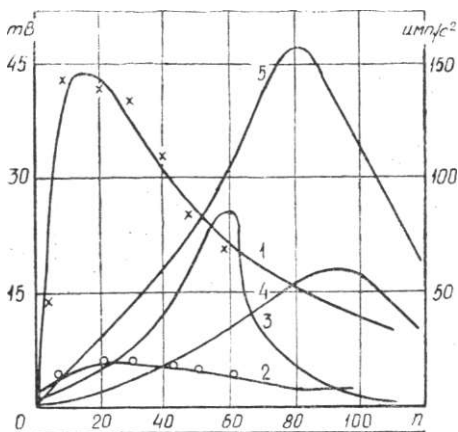


Рис. 1

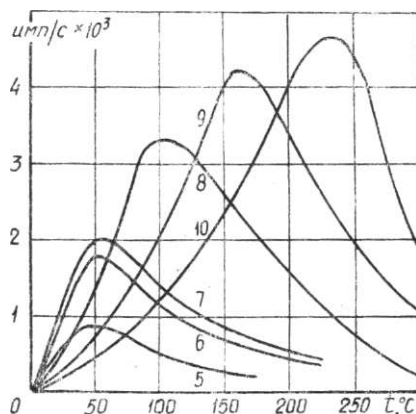


Рис. 2

Результаты опытов показаны на рис. 1. На картофеле сорта Гатчинский получены кривые интенсивности хемилюминесцентного свечения для здорового (кривая 2) и пораженного фитофторой на 20% (кривая 1) в зависимости от разведения сока. Из кривых 1, 2 следует, что возрастание активности хемилюминесцентного свечения наблюдает-

ся с увеличением разбавления до 20 раз. Особенно хорошо это видно на больном картофеле (кривая 1). При разведении в 30 раз и выше интенсивность свечения падает в больном и здоровом картофеле. Полученная закономерность проверена на восьми сортах картофеля, различных по устойчивости к фитофторе. Экспериментально установлено, что наиболее оптимально разведение сока картофеля 1:10, но его можно менять в зависимости от практического применения реакции.

На рис. 1 также представлен характер изменения скорости хемилюминесцентного свечения реакции в зависимости от рН раствора люминола на трех сортах картофеля. Вармас, восприимчивый к поражению фитофторой (при степени пораженности 2,8 балла), имеет максимум нарастания скорости свечения при рН 12,5 (кривая 3). Среднепоражаемый сорт Смачный (поражение фитофторой на 2,8 балла) имеет максимум нарастания свечения при рН 12,6 (кривая 5). Сорт Чаривныца при слабом поражении фитофторой (на 0,5—0,8 балла) дает максимальное нарастание свечения при рН 12,7 (кривая 4). Таким образом, область максимального свечения хемилюминесцентной реакции применительно к картофелю находится в пределах рН люминола 12,4—12,8.

На рис. 2 показано наступление максимума хемилюминесцентного свечения и время его достижения в зависимости от рН раствора люминола на картофеле сорта Смачный, имеющем поражение фитофторой по визуальной оценке 2,8 балла. Как видно из рисунка, хемилюминесцентная реакция протекает при рН выше 12,2. При рН 12,4 (кривая 5) ее максимум составляет 900 импульсов за 37 с, а при рН 12,8 (кривая 10) — 4800 имп. за 220 с, т. е. с увеличением рН возрастает как максимум интенсивности хемилюминесцентной реакции, так и время его наступления. Аналогичные результаты получены для других сортов картофеля.

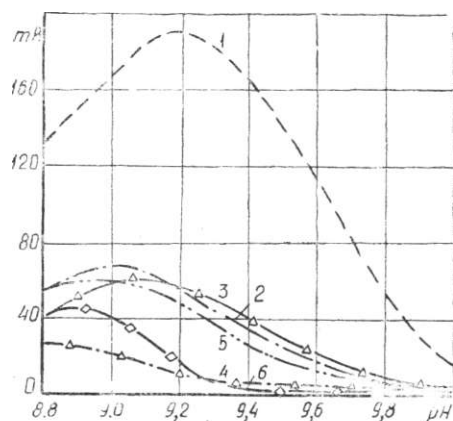


Рис. 3

рис. 3). При рН буфера 9,0 наблюдается максимум хемилюминесцентного свечения здорового картофеля на всех рассмотренных сортах и только у сорта Карнеа максимум находится между рН 9,0—9,2 (кривая 1). С повышением рН буфера падает интенсивность хемилюминесцентного свечения и при рН 10,0 свечение здорового картофеля всех сортов сводится к одному уровню,

Опыты, проведенные со здоровым картофелем с теми же растворами люминола, показали, что максимум хемилюминесцентной реакции наблюдается при рН 12,6—12,7, а при рН 12,8 наблюдается спад хемилюминесцентного свечения.

Для стабилизации протекания хемилюминесцентной реакции в систему вводили глициновый буфер с рН 8,8; 9,0; 9,2; 9,4; 9,6; 10. Серию опытов провели на визуально здоровом сортовом картофеле: Карнеа (кривая 1), Столбовый-19 (2), Темп (5), Приекульский ранний (4), Бородянский (5), Чаривныца (кривая 6,

ВЫВОДЫ

1. Разработанная хемилюминесцентная модельная система включает в себя: люминол, бензидин, перекись водорода, глициновый буфер и сок картофеля.

2. Разведение картофельного сока 1:10 дает наилучшие результаты при анализе сто хемилюминесцентным методом.

3. Максимум интенсивности свечения для пораженного фитофторой картофеля получают при использовании в реакции раствора люминола с рН 12,4—12,8, а для здорового — при рН 12,4—12,7.

4. Введение в систему глицинового буфера стабилизирует протекание хемилюминесцентной реакции. С увеличением рН буферного раствора падает интенсивность свечения здорового картофеля для всех сортов и при рН 10,0 находится примерно на одном уровне.

5. Время проведения анализа 2—3 мин, что дает возможность использовать предложенную реакционную смесь для применения в автоматическом устройстве экспресс-анализа качества картофеля при переработке его на предприятиях пищевой промышленности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Тарусов Б. Н. В сб.: Сверхслабые свечения в медицине и сельском хозяйстве. М., изд-во МГУ, 1971, с. 3.
2. Тарусов Б. Н., Веселовский В. А. Сверхслабые свечения растений и их прикладное значение. М., изд-во, МГУ, 1978, с. 75.
3. Попов Б. И., Цветкова В. В., Пономаренко А. А. Изв. вузов СССР, Пищевая технология, 1967, № 4, с. 27.
4. Коваль Н. Д. В сб.: Картоплярство. Киев, Урожай. 1973, вып. 4, с. 98.
5. Бабко А. К., Дубовенко Л. И., Луковская Н. М. Хемилюминесцентный анализ. Киев, Техника, 1966, с. 234.

Кафедра автоматизации
производственных процессов

Поступила 27 XI 1979

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ О КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

(Окончание. Начало на 118 с.)

Приведены новые интересные данные о содержании и условиях образования токсичных продуктов метаболизма микроорганизмов в самосогревающемся зерне — афлатоксинов, о найденных в перезимовавшем в поле зерне токсичном стериие липотоксоле и других ядовитых соединениях (спорофузарина, спорофузариогена и др.), о вредных для человека остатках пестицидов в зерне в результате применения их с нарушением установленных норм.

Впервые в учебную литературу для вузов пищевой промышленности вошли данные о механических повреждениях зерна при уборке урожая и при хранении, о влиянии этих повреждений на товарные, хлебопекарные и посевные качества зерна и о способах ослабления отрицательного влияния таких повреждений.

Отдельная глава посвящена пищевой ценности хлеба, изложенная с учетом требований сбалансированного питания, лежащего в основе современного учения о рациональном питании.

К недостаткам следует отнести слишком краткое изложение отдельных важных вопросов. Так, в главе о пищевой ценности хлеба ничего не сказано о крупе и макаронных изделиях. В разделе о пигментах нет сведений о принципах хроматографии, хотя в учебной программе она упоминается. В разделах, связанных непосредственно с зерном, порой слишком часто делается ссылка на отдельных авторов.

Непонятно, почему книге дан гриф учебного пособия, а не учебника, хотя авторы его имеют большой опыт в подготовке и издании учебников "для вузов".

В целом книга полезная, нужная, окажет большую помощь в учебном процессе.

Ф. Д. Братерский