

Влияние состояния воды на физико-химические свойства растительной продукции и её потери массы при холодильном хранении

Калацевич Н. Н.
nadineka86@mail.ru

Мурашев С. В.
s.murashev@mail.ru

*Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет
ИТМО
Институт холода и биотехнологий*

В статье рассмотрено состояние воды, находящейся в растительной ткани, её влияние на физико-химические свойства растительной продукции и на процессы, происходящие в растительной клетке. Показано, что соотношения свободной и связанной фракций воды в растительной ткани оказывают влияние на устойчивость к неблагоприятным внешним воздействиям, поражению микроорганизмами и потери массы растительной продукции во время хранения, обусловленные испарением воды. От соотношения свободной и связанной воды в растительной ткани зависит также активность физиологических процессов в ней, которая определяет интенсивность потерь питательных веществ.

Ключевые слова: плодовая и ягодная продукция, холодильное хранение, естественная убыль массы, прогнозирование, свободная вода, активность воды.

Во взрослой растительной клетке основная масса воды содержится в вакуолях. На долю цитоплазмы приходится только 5% воды клетки. В клеточных стенках содержание воды составляет от 25 до 40%. По своему состоянию вода растительной ткани делится на свободную и связанную воду [1].

Исследование воды, находящейся в составе биообъектов, проводимое различными методами (ЯМР и др.), позволяет условно различить три состояния воды, которым соответствуют три её фракции. Первая фракция находится на отдалении от поверхности молекул, способных связывать воду. Она характеризуется высокой подвижностью и определяется как свободная вода. Эта часть воды, являющаяся в клетках растворителем или средой для

переноса веществ и протекания реакций, метаболически активна, ее присутствие интенсифицирует физиологические процессы [2].

Вторая, менее подвижная, фракция расположена ближе к поверхности биополимеров и помещается в гидрофобных каналах и полостях различной формы, существующих внутри биополимеров и мембран. В мембранах и биополимерах существует вода, имеющая черты сходные с капиллярной водой. Эту часть воды составляет фракция связанной воды, которая необходима для стабилизации и функциональной интеграции внутриклеточных макромолекул и мембранных структур и для диффузии веществ через мембрану [2].

Интеграция мембранных структур происходит вследствие стремления амфифильных молекул объединяться в водных растворах в структуры, в которых тесный контакт углеводородных частей молекул рассматривается как результат гидрофобных взаимодействий, являющихся следствием отталкивания углеводов от полярных молекул воды и имеющих чисто термодинамическую причину возникновения [3]. Аналогичный механизм структурирования, с участием гидрофобных взаимодействий, наблюдается и в молекулах глобулярных белков. По-существу вода принуждает молекулы, содержащие гидрофобные углеводородные фрагменты к образованию упорядоченных структур.

Третья фракция представлена водой входящей в состав гидратных оболочек. Благодаря электростатическому притяжению дипольные молекулы воды образуют гидратные оболочки вокруг отрицательно и положительно заряженных ионизированных ($-\text{COO}^-$, $-\text{NH}_3^+$) и полярных групп ($-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{CONH}_2$, $=\text{C}=\text{O}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{SH}$, $=\text{NH}$), входящих в состав органических молекул, как биополимеров (прежде всего белков), так и низкомолекулярных веществ. Наиболее прочно связаны би- и мономолекулярные слои, фиксированные силами электростатического притяжения, заряженными группами молекул [2].

Экспериментальные данные показывают, что в окружении молекул белка существует слой воды толщиной 0,5–0,6 нм, микровязкость которого в 2–3 раза больше, чем у свободной воды. Коэффициент самодиффузии молекул воды в присутствии белков и других молекул, связывающих воду, сильно уменьшается за счет сил связывания [2]. По мере удаления от поверхности связывающих молекул, силы удерживающие молекулы воды ослабевают. Одновременно с этим возрастает подвижность и активность

молекул воды и увеличивается температура начала кристаллизации молекул воды.

В белках основной вклад в энергию гидратации дают водородные связи между водой и полярными группами. В наиболее прочно удерживаемом первом слое на поверхности белков содержится от нескольких десятков до сотен молекул воды. Основными центрами первичной гидратации являются гетероатомы полярных групп аминокислот и пептидные связи. Амидные группы и ионные пары не принимают активного участия в удержании гидратационной воды. Прочно связанная вода составляет около 10 % от массы биополимеров [4].

Низкомолекулярные гидрофильные вещества (углеводы, аминокислоты, органические кислоты и др.) обладают более высокой способностью связывать воду по сравнению с полимерами. Это следует из сопоставления влияния свободных мономеров и полимеров, сформированных из них, на внутриклеточное осмотическое давление.

Например, объединение отдельных хорошо растворимых в воде молекул глюкозы в полимер не приводит к заметному росту осмотического давления. В то же время, накопление в клетках свободной глюкозы привело бы к недопустимому росту осмотического давления [5]. Причина заключается в том, что на образование связей между мономерами при полимеризации используется часть гидрофильных групп, содержащих гетероатомы, что уменьшает их количество в полимерах. Поэтому в животных клетках накапливается не глюкоза, а гликоген, а в растительных – крахмал. Образующиеся полимеры не всегда остаются в растворе. Однако не растворимые в воде высокомолекулярные соединения (полисахариды, нуклеиновые кислоты и др.), составляющие около 80 % протопласта, влияют на осмотическое поступление воды в клетки благодаря способности к набуханию [1], реализуемой с помощью гидрофильных групп оставшихся свободными после полимеризации.

Помимо органических молекул растительные ткани содержат ионы, также образующие гидратные оболочки и прочно удерживающие молекулы воды. Так, например, энергия гидратации щелочных металлов Cs, K, Na лежит в пределах от 280 до 400 кДж/моль [3]. В то же время в алканах энергия связи атома водорода с первичным атомом углерода равна 406 кДж/моль, со вторичным атомом углерода 394 кДж/моль и с третичным атомом углерода 375 кДж/моль. Следовательно, энергия гидратации ионов, присутствующих в водной среде биосистем, сопоставима с энергией C–H

связи в углеводородах, что указывает на прочную фиксацию молекул воды в гидратных оболочках ионов.

Связанная вода, образуемая за счет сил электростатического притяжения гидратные оболочки вокруг биополимеров, низкомолекулярных органических соединений и ионов, получила название гидратационной воды. По данным различных методов общее количество воды в клетках намного превышает содержание связанной воды. Количество гидратационной воды зависит от физиологического состояния и составляет 20–50 % от содержания сухой массы в растительном объекте. Например, в листьях растений общее содержание воды в 10 раз превышает количество связанной гидратационной воды [1].

Вода, связанная с биополимерами и мембранами, имеет большое значение для стабилизации их структуры и проявления функциональной активности в живых системах. Белки и мембраны можно рассматривать как биодисперсные системы, в структуре которых сформировано большое число различных по форме каналов и объемов, содержащих молекулы воды [2]. В тоже время известно [6], что капиллярно связанная вода по своим свойствам существенно отличается от свободной воды. Температура замерзания такой воды лежит ниже 0 °С [2].

Энергия связывания воды зависит от диаметра капилляров. Наиболее прочное связывание происходит в микропорах (0,5–1,5 нм), для которых размер пор и адсорбируемых молекул сопоставим. В микропорах противоположные стенки расположены настолько близко, что поля их поверхностных сил перекрываются и действуют во всем объеме пор. Кроме того, в случае микропор большинство адсорбируемых молекул непосредственно взаимодействует с поверхностью адсорбента. В силу этих причин в микропорах происходит резкое увеличение адсорбции уже в области малых равновесных давлений [6].

В мембранах различают фракции воды, с различной степенью связывания. Вода, связанная в гидратные оболочки образуется вокруг полярных частей липидов и мембранных белков. Внутренняя связанная вода находится в виде отдельных молекул в липидной фазе мембран. Мембраны содержат также свободную воду. В центральной части мембран между липидными слоями обнаружена захваченная вода по параметрам подвижности соответствующая жидкой свободной воде, но из-за физической изоляции медленно обменивающаяся с внешней водой [4].

В зависимости от места локализации и энергии связывания вода имеет различную температуру замерзания. Вода локализованная вблизи поверхности или в полостях биоструктур имеет размытый диапазон температур кристаллизации в лед вплоть до $-70...-80$ °С, а фиксированная в би- и монослоях вода сохраняет подвижность молекул при температурах порядка $-120...-130$ °С [2]. Фиксированная вода не замерзает в клетках даже при -130 °С, поскольку при этой температуре еще сохраняется подвижность молекул воды. Такая низкая температура замерзания связана с концентрацией большого количества растворенных веществ, в том числе и ионов.

Чем ниже температура замерзания воды, тем прочнее она связана и больше по своим свойствам она отличается от свободной воды. С понижением температуры замерзания уменьшается активность воды и сокращается ее участие в биохимических и физико-химических процессах происходящих в биологической ткани.

По закону Рауля давление пара над раствором всегда меньше, чем над чистой водой. Чем больше концентрация раствора, тем больше связанной воды в нем и тем больше понижается давление пара над раствором. Следовательно, в соответствии с фазовой диаграммой воды (в координатах РТ) температура замерзания раствора всегда ниже температуры замерзания чистой воды и понижение криоскопической температуры раствора происходит с ростом его концентрации в соответствие с уменьшением давления пара над раствором. По той же причине, в результате увеличения количества связанной воды понижается не только давление пара над раствором, но одновременно происходит уменьшение активности воды. Таким образом, через давление пара осуществляется взаимосвязь криоскопической температуры и активности воды: с понижением криоскопической температуры уменьшается активность воды в растворе.

Состояние воды в клетках и растительных тканях зависит от ее связывания с молекулами, ионами и структурными элементами, входящими в их состав. В растительной ткани, как и в животной вода существует в виде свободной, связанной и прочно связанной фракций. Связанная вода замерзает в растительной ткани при температурах $-70...-80$ °С, в то время как прочно связанная вода замерзает при температурах $-100...-130$ °С. Метаболически активная, свободная часть внутриклеточной воды замерзает в диапазоне температур $-2...-5$ °С. Внеклеточная влага, локализованная в межклетниках,

осуществляющая медленный обмен с внутриклеточной влагой, замерзает при температурах $-1 \dots -2,8$ °C [2].

Поскольку молекулы метаболически активной, свободной воды имеют наибольшую подвижность, и свободная вода составляет большую часть воды растительной клетки, то уже в диапазоне температур $-2 \dots -5$ °C происходит замерзание основной части воды. Межклетники, содержат менее концентрированные растворы, чем вакуоль клетки и замерзают они по этой причине, при более высоких температурах [1]. Долю вымороженной воды можно рассчитать по формуле Чиждова, полученной исходя из закона Рауля [7].

У незакаленных к холоду растений явления, связанные с осмотической дегидратацией и сжатием протопластов, приводящие к необратимым повреждениям мембранных и протоплазматических структур, наступают уже при температуре $-1 \dots -2$ °C. Поэтому у не закаленных растений при росте внеклеточного льда за счет дегидратации клеток, когда охлаждение достигает указанных температур, протопласт сжимается в объеме на 50 %, чего оказывается достаточно для гибели клеток [2]. Это подтверждает факт, полученный различными методами, что количество свободной воды в клетках намного превышает количество связанной.

Соотношение свободной и связанной влаги в растительной ткани имеет для нее большое физиологическое значение. Скорость отдельных реакций и интенсивность физиологических процессов в целом зависят от содержания свободной воды в растительной ткани. Устойчивость к неблагоприятным внешним воздействиям, напротив, имеет прямую корреляцию с содержанием связанной воды [1].

Прочность связывания молекул воды с биополимерами имеет большое значение для формирования и стабилизации их нативной структуры и функциональной активности в живых системах. При низкой степени гидратации поверхностных полярных групп между молекулами возникают дополнительные контакты, снижающие конформационную подвижность глобул, что ведет к потере ферментативной активности. Поэтому участие воды в формировании биоструктур сводится, с одной стороны, к возникновению стабилизирующих гидрофобных взаимодействий, а с другой к созданию конформационной подвижности молекул [4].

Устойчивость к микробиальному поражению и способность растительной продукции к хранению с минимальными потерями также

зависят от соотношения свободной и связанной воды в растительной ткани. Это может быть связано со следующими причинами. В настоящее время говорят о двух механизмах поступления воды в клетку: осмотическом и коллоидно-химическом (набухании) [1]. Во взрослой клетке с большой центральной вакуолью основным является – осмотический механизм.

Осмотический механизм заключается в переносе воды из менее концентрированного раствора, содержащегося в апопласте, в более концентрированный раствор клеточного сока вакуолей. Накапливающиеся в вакуоли осмотически активные вещества, под влиянием которых вода поступает в клетку, являются продуктами клеточного метаболизма [1]. Поэтому увеличение их концентрации, создающее необходимое условие для притока воды в клетки, является следствием изменений происходящих в клеточном метаболизме.

Поступая в клетку, вода увеличивает внутреннее давление, действующее на клеточную стенку, отчего клетка переходит в напряженное состояние – тургор [1]. Возрастающее внутренне давление воды способна уравновесить клеточная стенка с повышенной прочностью и большим тургорным натяжением. Повышенные прочностные свойства клеточной стенки, как и синтез осмотически активных веществ в вакуолях, являются следствием изменений в метаболизме растительной ткани, приводящих к усилению стрессоустойчивости и увеличению адаптационных возможностей растительных организмов. В свою очередь клеточная стенка повышенной прочности будет препятствовать инфицированию, создавая трудно преодолимый механический барьер для проникновения микроорганизмов в клетку. Следовательно, метаболические и синтетические процессы, происходящие во время роста и развития, создают материальную основу безопасных для здоровья людей защитных механизмов, обеспечивающих длительное хранение растительной продукции с минимальными потерями.

При увеличении концентрации осмотически активных веществ в вакуоль поступает вода, но осмотическое равновесие в этом процессе не устанавливается, так как не происходит полного выравнивания концентраций растворов снаружи и внутри клетки. Этому препятствует тургорное натяжение клеточной стенки. На различие концентраций осмотически активных веществ внутри и вне клетки указывает также диффузия воды из клетки в апопласт при медленном замораживании.

Поэтому в вакуоли из-за ограничения накладываемого клеточной стенкой с повышенным натяжением соотношение свободной и связанной

воды смещается в сторону увеличения доли связанной воды. Вследствие чего понижается активность воды, уменьшается криоскопическая температура, и сокращается та часть потерь массы растительной продукции при хранении, которая связана с жизнедеятельностью и обусловлена испарением воды. Поскольку на испарение воды приходится 70 – 80 % естественной убыли массы растительной продукции при хранении, то результат сокращения потерь может быть значительным.

Кроме того, сокращение потерь массы растительной продукции при хранении может быть также следствием замедления в ней интенсивности физиологических процессов, поскольку они, прежде всего, зависят от содержания свободной влаги, которое понижается при увеличении содержания осмотически активных веществ в вакуоли.

Таким образом, изменения в клеточном метаболизме приводящие к усилению синтеза осмотически активных веществ в клетке и образованию клеточной стенки с повышенным натяжением приводят к уменьшению доли свободной воды в клетке, что ведет к уменьшению активности воды и понижению криоскопической температуры растительной ткани. Это находит свое отражение в росте стрессоустойчивости, увеличении адаптационных возможностей растительных организмов и снижении потерь при холодильном хранении. Взаимосвязь физико-химических свойств растительной ткани и параметров, определяющих хранение растительной продукции, открывает возможность прогнозирования хранения на основании определения её физико-химических показателей.

Выводы

Показано, что с одной стороны, такие взаимосвязанные между собой физико-химические свойства растительной ткани как криоскопическая температура и активность воды, а с другой стороны устойчивость к неблагоприятным внешним воздействиям, поражению микроорганизмами и потери массы растительной продукции во время хранения, обусловленные испарением воды, зависят от соотношения свободной и связанной фракций воды в растительной ткани. От соотношения свободной и связанной воды в растительной ткани зависит также активность физиологических процессов в ней, которая определяет интенсивность потерь питательных веществ. Исходя из этих взаимозависимостей, возникает возможность прогнозирования потерь массы растительной продукции при хранении на основании определения физико-химических свойств растительной ткани.

Список литературы

1. Кузнецов Вл.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений – М.: Высш. школа, 2005. – 736 с.
2. Белоус А.М., Грищенко В.И. Кробиология. – Киев: Наукова думка, 1994. – 430 с.
3. Рубин А.Б. Биофизика: в 2 т. Т. 2.: Биофизика клеточных процессов. – М.: Изд. МГУ, 2004. – 469 с.
4. Рубин А.Б. Биофизика: в 2 т. Т. 1.: Теоретическая биофизика. – М.: Изд. МГУ, 2004. – 448 с.
5. Эллиот В., Эллиот Д. Биохимия и молекулярная биология. – М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», 2002. – 446 с.
6. Фролов Ю.Г. Курс коллоидной химии. – М.: ООО ТИД «Альянс», 2004. – 464 с.
7. Алмаши Э., Эрдели Л., Шарой Т. Быстрое замораживание пищевых продуктов. – М.: Легкая и пищ. пром., 1981. – 408 с.

Water state influence on the physicochemical properties of plant tissue and its natural decrease of the mass during cold storage

Kalatsevich N.N., Murashev S.V.

*National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics
Institute of Refrigeration and Biotechnologies*

The state of water in plant tissue, its influence on the vegetable production physical and chemical properties and on the different elaborations in plant cells was distinguished in this article. It was shown that correlations between free and associated water in plant tissue influence on the stability to injurious external effect, to microorganisms lesions and decrease of the vegetable production mass during cold storage. The activity of physiological processes in plant tissue vary and depend on correlation between free and associated water, which determine the density of nutrients loss.

Key words: fruit and berries, cold storage, natural decrease of the mass, prediction, free moisture, water activity.