

УДК 663.252

## ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ВОЗДЕЙСТВИЯ НА РАЗВИТИЕ ДРОЖЖЕЙ И ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ОБРАБОТКЕ ВИНОГРАДНЫХ ВИН

**Бабенкова М.А., аспирант, Христюк В.Т., канд. техн. наук,  
Струкова В.Е., канд. техн. наук**  
*Кубанский государственный технологический университет  
(Краснодар)*

**Реферат.** Изучено влияние электромагнитного поля крайне низких частот и вибрационного воздействия на жизнедеятельность дрожжей, используемых в виноделии. Установлены режимы ЭМП КНЧ и виброобработки с целью регулирования процесса брожения. Выявлены частоты ЭМП КНЧ, позволяющие подавлять в вине патогенную микрофлору.

**Ключевые слова:** вибрационное воздействие, микрофлора, брожение, электромагнитное поле

**Summary.** The effect of electromagnetic fields of extremely low frequencies and vibratory effects on the life of yeast used in winemaking. Established modes of ELF EMF and vibroobrabotki to control the fermentation process. Identified frequency ELF EMF, allowing to suppress the fault of pathogens.

**Keywords:** vibration emission microflora, fermentation, electromagnetic field

**Введение.** Важнейшим и обязательным этапом производства виноградных вин является спиртовое брожение, представляющее собой сложный биохимический процесс, проходящий при каталитическом действии ферментов дрожжевых клеток. От кинетики и состава продуктов ферментации во многом зависит качество готового напитка. Причем, вкус и аромат вина обусловлены как выбором оптимальных параметров процесса брожения, так и используемых при этом рас дрожжей [1].

В виноделии применяют чистые культуры дрожжей рода *Saccharomyces Vini*. В зависимости от способа брожения и типа получаемого вина выбирают штаммы дрожжей, позволяющие приготовить высококачественные продукты с сохранением особенностей сорта винограда и территории его произрастания, снижающие вероятность инфицирования суслу и недобродов [2, 3].

По мнению ученых [2] после прохождения спиртового брожения создаются благоприятные условия для жизнедеятельности молочнокислых бактерий (МКБ), объединенных в семейства *Lactobacillaceae* (род *Lactobacillus*) и *Streptococcaceae* (род *Streptococcus* и *Pediococcus*) [4].

Молочнокислые бактерии вызывают яблочно-молочное брожение (ЯМБ), в результате которого происходит расщепление двухосновной яблочной кислоты до одноосновной молочной, что способствует улучшению органолептических характеристик вин, таких как снижение титруемой кислотности, умягчение вкуса, появление в аромате вин тонких приятных тонов молочных сливок. Однако, недостаточный микробиологический контроль за прохождением ЯМБ может привести к заболеваниям вин □ ослизнению и прогорканию [5]. При этом степень опасности, которую бактерии представляют для вина зависит от характеристики химического состава самого вина и от свойств вида бактерий.

Процесс уксуснокислого брожения (скисания), вызывается уксуснокислыми бактериями (УКБ) (род *Acetobacter* виды *Ac. cueti*, *Ac. ascendeus*, *Ac. rauces*, *Ac. xylinum*). Уксуснокислые бактерии широко распространены в природе и находятся в почве, воздухе, на ягодах и фруктах. В том или ином количестве они имеются в каждом здоровом вине. Однако при определенных условиях в винах может развиваться уксусное скисание – это одна из наиболее распространенных и опасных болезней, возникающих как в молодых, так и в

старых винах. Продукты жизнедеятельности этих микроорганизмов даже в малых количествах придают напитку острый неприятный запах и резкий «царапающий горло» вкус [6].

Вышеперечисленные микроорганизмы подвержены влиянию различных внешних физических факторов, таких как температура, концентрация кислорода, давления и др. Нами изучено влияние электрофизических методов воздействия на развитие дрожжей и патогенных микроорганизмов при обработке виноградных вин.

**Объекты и методы исследований.** В качестве электрофизических методов воздействия использовали электромагнитное поле крайне низких частот (ЭМП КНЧ) и вибрационную обработку при различных режимах по частоте, напряженности, амплитуде и продолжительности на жизнедеятельность винных дрожжей рода *Saccharomyces* вида *Vini*, молочнокислых и уксуснокислых бактерий. Нашей задачей являлось выявление оптимальных параметров обработок с целью регулирования микробиологических и биохимических процессов, проходящих при производстве виноградных вин.

Объектом исследования являлись дрожжи (ЧКД) расы Шампанская 7-10С и активные сухие дрожжи (АСД) следующих штаммов: ИОС 18-2007, ИОСВР 8000, ИОСР 9002, ИОСВ 2000, ИОСР 9008.

Для исследования влияния вибрационной обработки на процесс брожения суслу была выбрана чистая культура дрожжей расы СУ 3079.

Для изучения влияния электромагнитного поля крайне низкочастотного диапазона на активность уксуснокислых и молочнокислых бактерий использовали уксуснокислые бактерии рода *Acetobacteraceae* и молочнокислые бактерии рода *Lactobacillusplautarum*.

В качестве питательной среды для дрожжей было выбрано виноградное сусло, выработанное на различных винодельческих предприятиях Темрюкского района Краснодарского края. Во всех образцах определяли основные показатели химического состава суслу различных сортов винограда – массовую концентрацию сахаров и титруемых кислот.

**Результаты и обсуждение.** Данные представлены в табл. 1.

Таблица 1 – Основные показатели химического состава виноградного суслу, различных винодельческих предприятий

Наименование предприятия	Сорт винограда	Массовая концентрация, г/дм <sup>3</sup>	
		сахаров	титруемых кислот
ЗАО АФ «Южная»	Ркацители	180,0	6,4
ООО «Союз-вино»	Алиготе	181,0	6,5
ООО «Союз-вино»	Рислинг	223,0	6,8
ЗАО МПБК «Очаково» «Южная винная компания»	Каберне-Совиньон	199,0	8,0
	Саперави	202,0	7,0
ЗАО АФ «Южная»	Мерло	240	7,7
ООО «Союз-вино»	Пино блан	220	7,1

Вибрационное воздействие на образцы проводили с помощью установки, позволяющей генерировать колебания в интервале частот 1,6–23,3 Гц (100-1400 1/мин.) с амплитудой колебаний 1-5 мм, с продолжительностью процесса 15–120 минут [7].

Влияние вибрационного воздействия на развитие микроорганизмов исследовали на жидкой разводке чистой культуры дрожжей по следующей методике.

Определенное количество разводки ЧКД расы СУ 3079 помещали в рабочую камеру аппарата, где подвергали вибрационному воздействию в течение 15 минут, с амплитудой

колебаний 5 мм при различных частотах (путем сообщения перфорированной пластине низкочастотных колебаний с определенной амплитудой). Содержание кислорода в разводке при этом в зависимости от частоты колебаний составляло 2,8-6,3 мг/дм<sup>3</sup>. Разводку ЧКД, обработанную при различных частотах, вносили в количестве 3 % от объема в купажное сусло, состоящее из сортов Мерло и Пино блан в соотношении 2:1. Ежедневно в образцах определяли количество микроорганизмов подсчетом в камере Горяева.

Для изучения направленного регулирования процесса брожения в исследуемом вино-материале подбирали такие частоты, которые способствовали бы накоплению биомассы.

Разводку ЧКД с концентрацией дрожжевых клеток 50 млн/см<sup>3</sup> подвергали виброобработке.

Для проведения экспериментов по воздействию ЭМП КНЧ на биологические системы применялась специальная лабораторная установка [8].

Опыты по влиянию частоты электромагнитного поля на жидкую разводку ЧКД расы Шампанская 7-10С и сухих дрожжей расы ЮС 18-2007 осуществляли по следующей методике. Определенное количество разводки ЧКД указанной расы помещали в установку, где обрабатывали электромагнитным полем в течение 30 минут с величиной магнитной индукции  $B = 0,9$  мТл при частотах  $f$  от 3 до 30 Гц. На следующие сутки определяли количество микроорганизмов путем подсчета в камере Горяева.

Для определения частот, угнетающих и стимулирующих рост клеток, проведен следующий эксперимент. Определенное количество разводки УКБ и МКБ вносили в вино-материал, полученную субстанцию обрабатывали ЭМП в течение 30 минут с величиной магнитной индукции  $B=0,9$  мТл на частотах 3, 6, 9, 12, 16, 20, 24, 27 и 30 Гц. Через сутки после обработки определяли количество микроорганизмов подсчетом в камере Горяева. Наличие мертвых клеток определяли окрашиванием исследуемого образца синью Коха.

В результате эксперимента были получены данные по изменению биомассы дрожжей при вибрационной обработке жидкой дрожжевой разводки, что отображено на рис. 1.

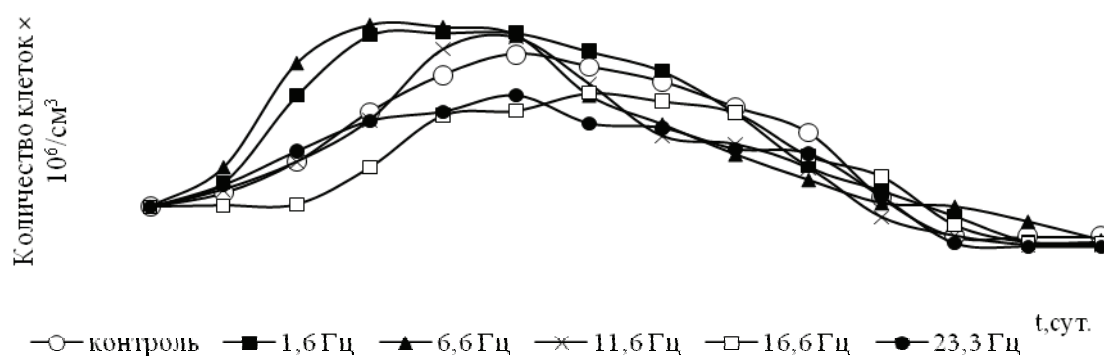


Рис. 1. Зависимость накопления биомассы дрожжей от частоты вибрационных колебаний при амплитуде 5 мм

Из рисунка 1 видно, что стимулирующее влияние на рост дрожжевых клеток оказывается при частоте вибрационных колебаний 6,6 Гц, а ингибирование ферментации и замедление роста происходит при частоте 16,6 Гц и 23,3 Гц.

Данные проведенных исследований показывают, что стадия бурного развития дрожжей (фаза экспоненциального роста), при воздействии на разводку при частоте 6,6 Гц начиналась раньше по сравнению с другими образцами. При этом максимальное накопление дрожжей происходило уже на шестые сутки, достигая максимума –  $207 \cdot 10^6$  клеток в 1 см<sup>3</sup>. Это позволило быстро и полно провести процесс брожения.

Механическая обработка вызывала изменение метаболизма дрожжей, что приводило к уменьшению продолжительности лаг-фазы и почкования клеток, изменению скорости роста. По мнению, Бурьян Н.И., Гусевой Е.В., скорость брожения, зависит от проникновения молекул сахаров в дрожжевые клетки, за счет проницаемости цитоплазматических мембран. Обработка дрожжей вибрационным полем с частотой  $f=6,6$  Гц, вероятно, способствовала освобождению поверхности клеток, на которых сорбировались различные коллоидные вещества и другие высокомолекулярные соединения суслу в процессе брожения, что приводило к увеличению проницаемости мембраны для проникновения углеводов и других питательных веществ среды.

Необходимо отметить, что обработка дрожжевой разводки при частотах 11,6 Гц не оказывала существенного влияния на накопление дрожжей. Как и в контрольном образце, их количество достигало максимума на 10 сутки, но в исследуемом образце количество клеток было на 7 % больше.

При воздействии на разводку вибрацией с частотами 16,6 Гц и 23,3 Гц и амплитудой 5 мм происходит снижение ферментативной активности дрожжевых клеток, и их максимальное количество (на 19 % ниже контроля) наблюдалось только на 12 день брожения.

Таким образом, проведенные исследования показали, что вибрационная обработка разводки ЧКД позволила регулировать процессы жизнедеятельности дрожжей, стимулировать либо замедлять их развитие, обеспечивая тем самым накопление в молодом вино-материале необходимого количества спиртов и других ароматических веществ.

Воздействие электромагнитного поля крайне низких частот на прирост биомассы дрожжей расы Шампанская 7-10С (жидкая разводка) и активных сухих дрожжей расы ИОС 18 -2007, отражены на рис. 2 и 3.

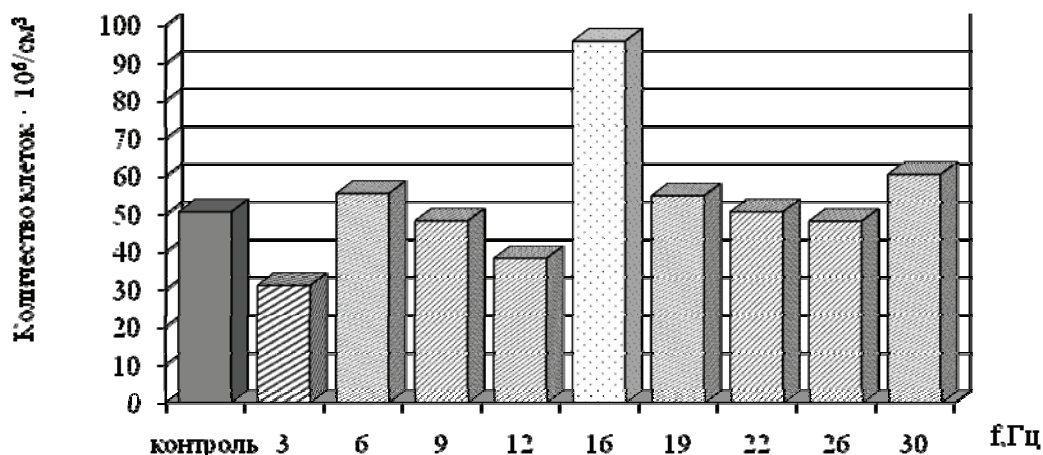


Рис. 2. Влияние частоты (f) ЭМП КНЧ на прирост биомассы дрожжей расы Шампанская 7-10С

Из рис. 2 видно, что при воздействии ЭМП в диапазоне 3-30 Гц, напряженности 0,9 мТл и продолжительности 30 минут на разводку ЧКД расы Шампанская 7-10С наблюдается ускоренный рост биомассы дрожжей при частоте воздействия 16 Гц, и замедленный – при частоте 3 Гц

В случае обработки ЭМП КНЧ сухих дрожжей расы ИОС 18-2007 максимальный прирост биомассы наблюдается при частотах обработки 3 и 16 Гц, а угнетающее действие на обрабатываемый образец оказывает частота 30 Гц (рис. 3).

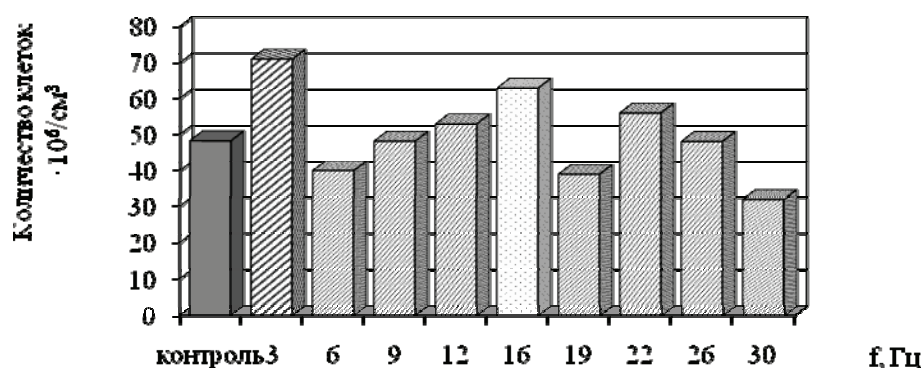


Рис. 3. Влияние частоты ЭМП КНЧ на прирост биомассы дрожжей расы ИОС 18-2007

Исходя из этого, для проведения экспериментов по определению продолжительности воздействия нами выбраны частоты ЭМП КНЧ 3 и 16 Гц.

Указанные выше расы обрабатывали ЭМП КНЧ в течение 10, 20, 30, 45 и 60 минут. В течение недели наблюдали за процессом развития микроорганизмов, считая количество живых и мертвых клеток. Результаты приведены на рис. 4 и 5.

В первые сутки после обработки дрожжей расы ИОС 18 – 2007 при частоте воздействия 3 Гц отмечается активный рост биомассы при продолжительности обработки 10 минут. При частоте 16 Гц исследуемые микроорганизмы лучше развиваются в образце, обработанном ЭМП в течение 30 минут. Надо отметить, что в образце, обработанном при частоте 3 Гц в течение 30 минут, также существенно увеличивается количество дрожжевых клеток по сравнению с контрольным образцом.

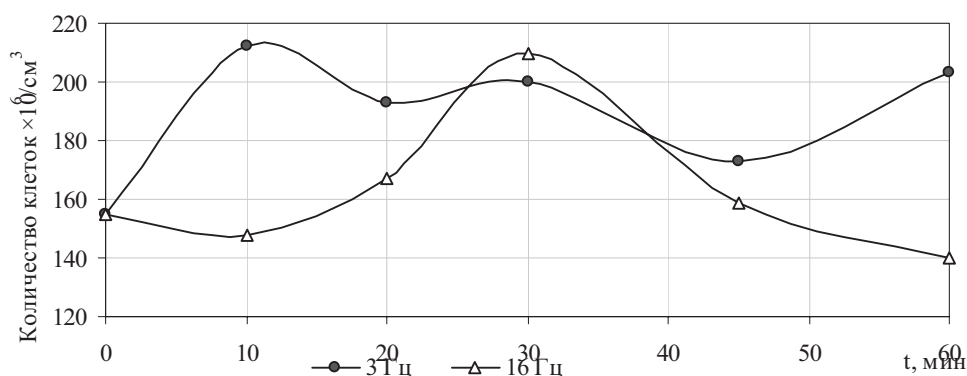


Рис. 4. Количество живых клеток в 1-е сутки после обработки ЭМП КНЧ сухих дрожжей расы ИОС 18-2007

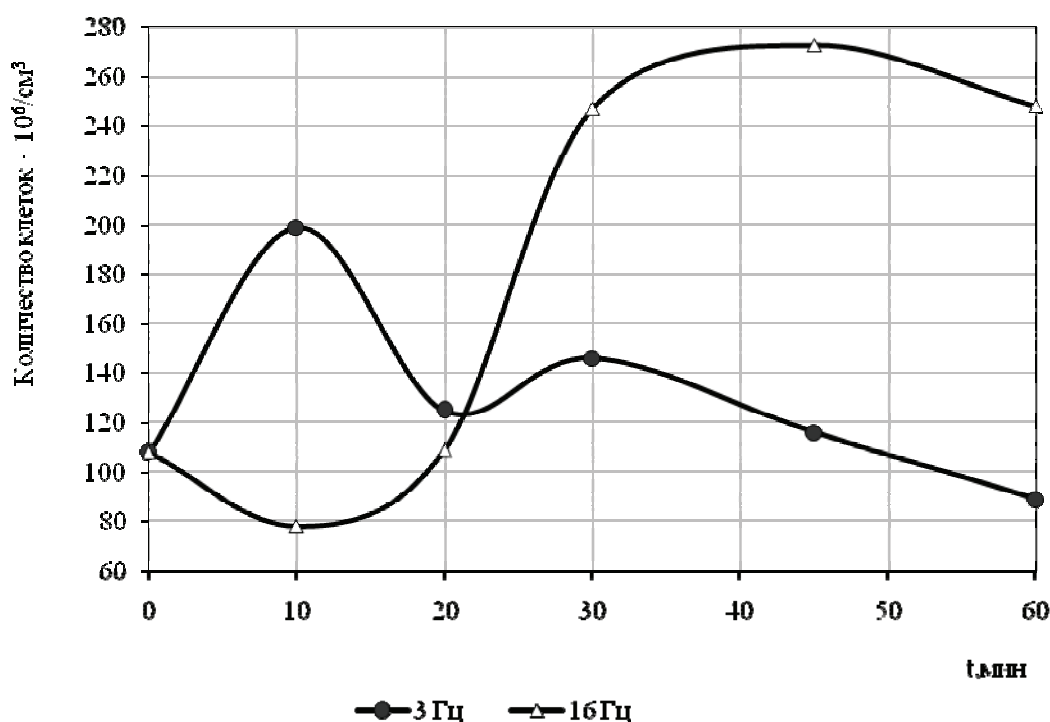


Рис. 5. Количество живых клеток в 1-й день после обработки ЭМП КНЧ дрожжей расы Шампанская 7-10С

Дрожжи расы Шампанская 7-10С максимально накапливают биомассу в 1-й день брожения при частоте 3 Гц и времени воздействия 10 минут, и при частоте 16 Гц и продолжительности обработки 45 минут.

Однако при времени обработки 30 минут дрожжевые клетки интенсивно развиваются и при частоте 3 Гц и при частоте 16 Гц.

На шестой день брожения максимальное количество живых микроорганизмов находилось в образцах, сброженных сухими активными дрожжами, обработанными в течение 30 минут при частоте 3 Гц и 16 Гц.

Полученные результаты показывают, что увеличение накопления биомассы по сравнению с контрольным образцом происходит при обработке продолжительностью 30 минут, причем на обеих частотах 3 Гц и 16 Гц, как для разводки ЧКД, так и для сухих дрожжей. В связи с этим, дальнейшие исследования проводили при установленной продолжительности воздействия электромагнитного воздействия.

При исследовании влияния электромагнитного поля крайне низких частот на уксуснокислые бактерии выявили, что через сутки после обработки максимальное количество живых клеток УКБ отмечено в образцах, обработанных при частоте 3 и 16 Гц, а наименьшее развитие УКБ наблюдается при частоте воздействия 30 Гц. Мертвые клетки содержатся во всех образцах в количестве от 8 до 27 млн. клеток в 1 см<sup>3</sup> рис. 6.

На третий день после обработки в образцах, обработанных при частоте 3, 6, 12, 16, 24 и 30 Гц, отмечалось уменьшение живых клеток вдвое, и как следствие увеличилось количество мертвых.

Наибольший прирост биомассы УКБ наблюдался в образцах, обработанных при частоте 20 и 27 Гц, и особенно - при 9 Гц (рис. 7).

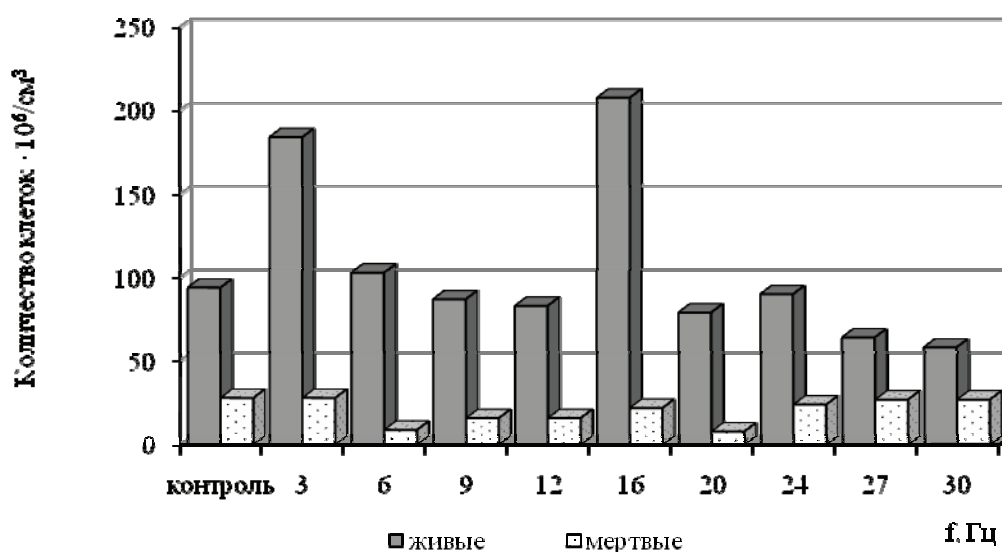


Рис. 6. Влияние ЭМП на развитие уксуснокислых бактерий (1-е сутки после обработки)

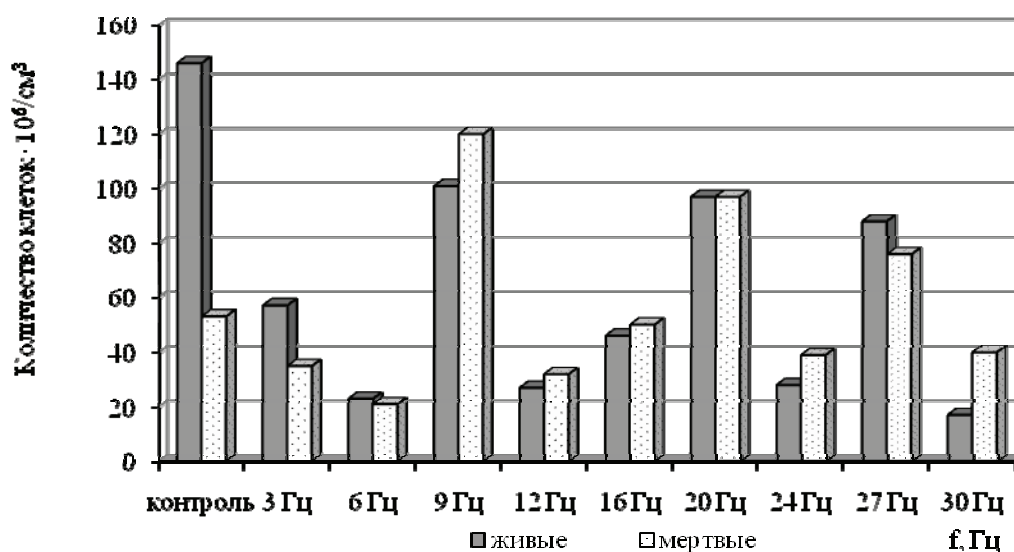


Рис. 7. Влияние ЭМП на развитие уксуснокислых бактерий (3-е сутки после обработки)

Следует отметить, что в контрольном образце УКБ развивались гораздо интенсивнее, что приводило к значительному накоплению уксусного альдегида и резкому ухудшению качества вина.

На шестой день проведения эксперимента абсолютное большинство микроорганизмов в экспериментальных образцах погибло, за исключением контроля, их большее количество в контрольном образце в 15–100 раз было выше опытных (рис. 8).

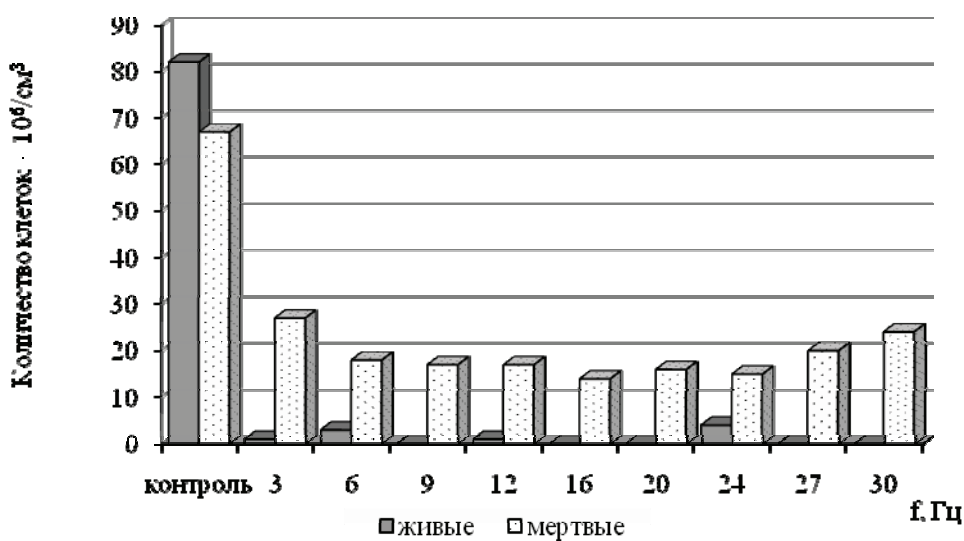


Рис. 8. Влияние ЭМП на развитие уксуснокислых бактерий (6-е сутки после обработки)

Максимальное количество мертвых клеток содержится в образцах, обработанных при 3 и 30 Гц. Тем временем клетки УКБ в контрольном необработанном образце проявляли высокую жизненную активность.

Для решения проблемы уксуснокислого брожения (скисания) вина рекомендована частота обработки 30 Гц, именно при этой частоте воздействия УКБ погибают на шестые сутки.

При обработке виноматериала с молочнокислыми бактериями ЭМП КНЧ на следующие сутки наблюдали максимальное накопление биомассы клеток в опытных образцах при частоте 3, 16 и 30 Гц (рис.9). Активнее всего клетки развивались в контрольном образце.

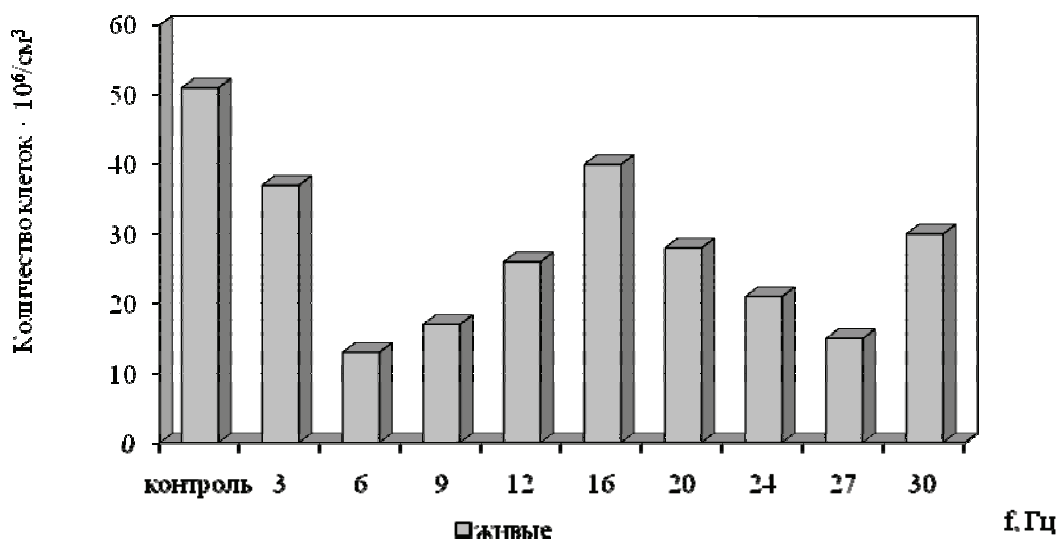


Рис. 9. Влияние ЭМП на развитие молочнокислых бактерий (1-е сутки после обработки)



На третьи сутки проведения испытаний в описанных образцах количество живых микроорганизмов сократилось в 2-3 раза. Тогда как МКБ обработанные при частотах 9, 12, 20 и 24 Гц продолжали развиваться (рис. 10).

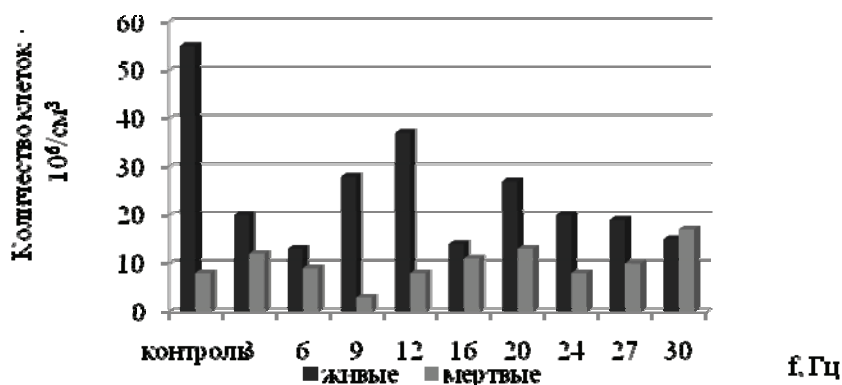


Рис. 10. Влияние ЭМП КНЧ на развитие молочнокислых бактерий (3-е сутки после обработки)

На шестые сутки после обработки полученной субстанции ЭМП КНЧ количество живых клеток во всех образцах снизилось в 2-4 раза. Наименьшую активность проявляют МКБ в образцах, обработанных при частоте 3, 16 и 30 Гц (рис. 11). Количество живых микроорганизмов в контроле снизилось в 1,4 раза по сравнению с первым днем эксперимента, а вот в образце, полученном обработкой ЭМП КНЧ при частоте 27 Гц, количество молочнокислых бактерий увеличилось в 2,7 раза и достигло уровня контрольного образца.

Таким образом, в ходе эксперимента установлено, что частота 30 Гц подавляет развитие уксуснокислых и молочнокислых бактерий. Вероятно, это связано с переориентацией дипольных молекул воды, входящей в состав клеток, под действием электромагнитного поля, что приводит к деформации клетки и ее последующей гибели. Анализируя данные проведенных исследований, можно заключить, что электрофизические методы воздействия позволяют регулировать микробиологические процессы, проходящие при производстве виноградных вин.

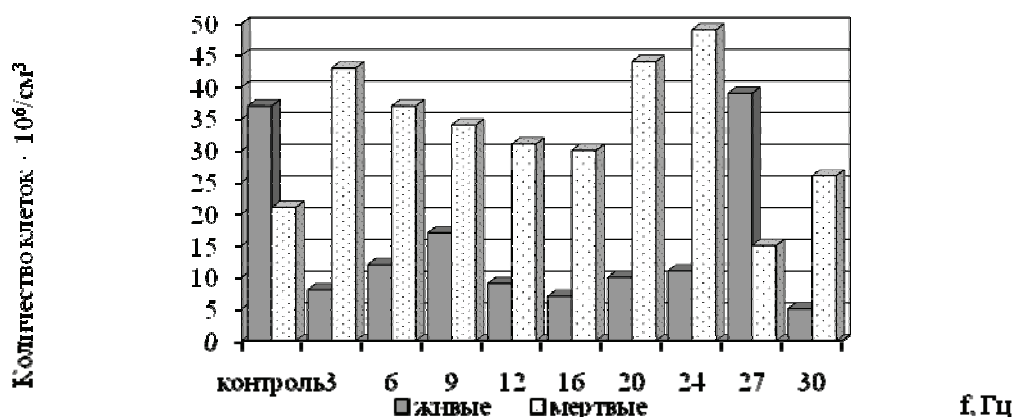


Рис. 11. Влияние частоты ЭМП КНЧ на развитие молочнокислых бактерий (6-е сутки после обработки)

Так, вибрационная обработка чистой культуры дрожжей при амплитуде  $A=5$  мм, продолжительности  $t=15$  минут и частоте  $f=6,6$  оказывает стимулирующее влияние на развитие дрожжевых клеток; при частоте  $f = 16,6$  Гц ( $A=5$  мм,  $t=15$  мин.) – ингибирующее, что позволяет регулировать продолжительность процесса брожения и количество основных и побочных продуктов ферментации сусла.

**Выводы.** Установлены оптимальные параметры воздействия ЭМП КНЧ на дрожжевые клетки различных рас. Частоты, стимулирующие развитие клеток и накопление биомассы Шампанская 7-10С – 16 Гц, для штаммов ЮС 18-2007 – 3 и 16 Гц,  $B = 0,9$  мТл, продолжительность 30 минут. Определена частота, подавляющая развитие уксуснокислых и молочнокислых бактерий –  $f = 30$  Гц. Прирост биомассы УКБ вызывает обработка сусла ЭМП КНЧ частотами 3, и 16 Гц, МКБ – при 27 Гц.

#### Литература

1. *Кишковский, З.Н.* Технология вина / З.Н. Кишковский, А.А. Мерджаниан. – Москва: Легкая и пищевая промышленность, 1984. – 504 с
2. *Бурьян, Н.И.* Практическая микробиология виноделия / Н.И. Бурьян. – Симферополь: Таврида, 2003. – 560 с.
3. *Герасимов, М.А.* Технология вина / М.А. Герасимов. – Москва: Пищевая промышленность, 1964. – 352 с.
4. *Квасников, Е.И.* Биология молочнокислых бактерий / Е.И. Квасников. – Москва: Изд. АН ССР, 1960. – 415 с.
5. *Рабинович, З.Д.* Кислотовыносливость молочнокислых бактерий, выделенных из вин // Виноделие и виноградарство СССР. 1974. №2. – С. 15–23.
6. *Соболев, Э.М.* Технология натуральных и специальных вин./ Э.М. Соболев. – Майкоп: ГУРИПП «Адыгея», 2004. – 400с.
7. *Шакун М.М., Узун Л.Н., Христюк В.Т.* Подавление болезнетворных микроорганизмов физическими методами воздействия // Виноделие и виноградарство. 2008. №4. – С. 12–13.
8. *Христюк, В.Т.* Совершенствование технологии вин и напитков с применением способов электрофизической и сорбционной обработки / В.Т. Христюк. – Краснодар: «Экоинвест», 2012. – 324 с.