

Э. О. ПЕТЯН

СПИРТОУСТОЙЧИВОСТЬ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫЗЫВАЮЩИХ СКИСАНИЕ ВИН

Изучению влияния спирта на различные группы микроорганизмов посвящено много работ. Redisch [11], Schinzel и Lingnau [12] подробно изучили действие одноатомных спиртов, особенно этилового и их водных растворов, как антисептиков. Ими было доказано, что эти спирты обладают бактерицидным и бактериостатическим действием на вегетативные клетки микроорганизмов. Антибактериальное действие спирта объясняется денатурацией протеинов клетки. В отсутствии воды денатурация белков происходит слабее и поэтому абсолютный этиловый спирт менее бактерициден, чем его водные растворы.

Наиболее чувствительны к воздействию спиртов вегетативные формы микроорганизмов; споры бактерий значительно более резистентны. Высокие концентрации спирта у ряда микроорганизмов вызывают лизис. Это обуславливается тем, что спирты в определенных дозах вызывают прекращение роста микроорганизмов, но не приостанавливают действия протеолитических ферментов.

Особенно подробно изучено отношение дрожжей к этиловому спирту. Работы Д. Л. Шамис и Л. Е. Медведева [9], Н. Ф. Саенко [7, 8] показали, что размножение дрожжей подавляется более низкими дозами спирта, чем их жизнедеятельность во время брожения.

Отношение к спирту молочнокислых бактерий, особенно вызывающих молочнокислое скисание, изучалось многими исследователями: Мюллер-Тургау и Остервальдер [10] установили, что выделенные ими из сухих вин штаммы молочнокислых бактерий развиваются при содержании спирта в среде 12 об. %, единичные—14 об.%. Рибери-Гайон [6], изучая заболевания вин, предполагал, что высокая спиртоустойчивость присуща только немногим представителям группы молочнокислых бактерий. А. С. Заславский [2] указывает, что при 9,66 об. % спирта наблюдается значительное разложение глюкозы, при 12 об. % спирта бактерии почти нежизнеспособны, а при 14 об. % бактерии не развиваются совсем.

Довольно подробно и обстоятельно этот вопрос был изучен Е. И. Квасниковым [3] в условиях Средней Азии. По его данным все штаммы *Lactobacterium buchneri*, выделенные из вин, развивались при концентрации спирта 18—22 об. %. Особенно высокую спиртоустойчивость (до 23 об. %) обнаружили штаммы, выделенные из шампанского в резервуарах. Возможно, что жесткие условия резервуарной шампанзации направленно содействовали повышению их спиртоустойчивости. В процессе многолетних исследований Е. И. Квасникову удалось выделить из

Биологический журнал Армении, XX, № 1—7

шампанского и десертных вин несколько штаммов, выдерживающих до 25 об. % спирта. М. Я. Андрусенко [1], изучая действие некоторых спиртов на молочнокислые бактерии, нашел, что они проявляли наибольшую устойчивость не к метиловому, а к этиловому спирту.

Высокая устойчивость молочнокислых бактерий к этиловому спирту возникла у них, по-видимому, в результате развития вместе с дрожжами в спиртосодержащих субстратах. Спиртоустойчивость в некоторой степени определяется экологическими условиями развития; большей устойчивостью обладали штаммы, выделенные из производственных субстратов, меньшей—из природных.

Известно, что бактериальные заболевания вин возникают под влиянием эколого-географических условий, особенно в странах с жарким климатом, где обычно низкая активная кислотность сусел и вин способствует развитию бактерий. Имея в виду это обстоятельство, мы занимались изучением молочнокислого скисания вин Октемберянского района Армянской ССР. Работа проводилась под руководством доктора биологических наук Ф. Г. Саруханян.

В течение 1964—1965 гг. из сухих и десертных вин Октемберянского винного завода и пунктов первичной переработки, нами было выделено 50 штаммов молочнокислых бактерий и изучена их спиртоустойчивость.

Спиртоустойчивость изучалась по следующей методике: в пробирки с капустной средой (5 мл) вводился спирт в следующих концентрациях: 10, 12, 15, 18, 20, 22, 23 и 25 об. %, и после тщательного перемешивания вводилась активная 2—3 суточная культура молочнокислых бактерий (табл. 1). Пробирки закрывались пробками, во избежание испарения спирта дополнительно парафинировались и ставились на термостатирование при температуре 20—22°. Наблюдения велись на 3, 5, 10 день (просмотр пробирок, микроскопирование и измерение величины клеток бактерий).

Данные таблицы показывают, что хорошего развития достигают многие штаммы молочнокислых бактерий в среде с концентрацией спирта 10—18 об. % (1025, 30, 1022, 1018). Энергичное развитие у большинства штаммов наблюдается в среде при концентрации 18—20 об. %. Некоторые штаммы (35(3), 1053) энергичного развития достигают при концентрации спирта 15 об. %, единичные штаммы [8] этого развития достигают при концентрации спирта 12 об. %. При концентрации спирта 23—25 об. % рост почти всех штаммов ослабляется. Среди них имеются единичные штаммы, которые совсем не развиваются при концентрации спирта 23—25 об. %. При различной концентрации спирта на капустной среде изменяются размеры клеток молочнокислых бактерий.

Измерение величин (10-ти клеток) молочнокислых бактерий проводилось при помощи винтового окулярного микрометра. Выводился средний размер клеток в микронах (табл. 2).

Данные табл. 2 показывают, что у большинства штаммов молочнокислых бактерий с повышением концентрации спирта в среде увеличиваются и размеры клеток. При этом они образуют нити и цепочки, длина

Таблица 1

Развитие молочнокислых бактерий при различных концентрациях спирта

Число штаммов	№№ штаммов	Концентрация спирта в об. %							
		10	12	15	18	20	22	23	25
8	4, 2, 18, 20, 22, 26, 30, 1025	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+
7	5, 14, 28, 35, 36, 38 (3)	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
4	1, 6, 9, 887	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
4	889, 1018, 1019, 1022	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
2	24, 1053	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
3	35 (3), 42, 1044	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
1	8	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
1	3	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
3	19, 1059, 1060	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
1	1045	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
2	1054, 1056	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
2	31, 43	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
2	21, 24	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
2	23, 33	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
2	42, 44	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
1	1024	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
1	880	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
2	27, 872	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
1	879	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
1	878	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+

Примечание: хорошее развитие +++
 энергичное ++
 слабое +
 следы -+-
 отсутствие -

Таблица 2

Величина клеток молочнокислых бактерий при различных концентрациях спирта (в μ)

№№ штамма	Величина клеток без спирта	10 об. %	15 об. %	20 об. %	25 об. %
1	2	3	4	5	6
5	1—2 x	2—3 x	3—6 x	6—7 x	—
	0,2—0,3	1,0—1,2	1,0—1,2	1,0—1,2	—
43	0,4—0,5 x	0,5—0,6 x	1—2 x	2—3 x	—
	0,3—0,5	0,4—0,5	0,4—0,5	0,3—0,4	—
1045	1—2 x	1—3 x	2—3 x	2—5 x	—
	0,5—0,6	0,5—0,6	0,4—0,5	0,3—0,4	—
1020	0,5—1,0 x	2—3 x	3—3,5 x	3—5 x	—
	0,2—0,3	0,5—0,6	0,5—0,6	0,5—0,6	—
1018	1—1,3 x	1—2 x	1—2 x	1—2 x	2,8—5,0 x
	0,5—0,6	0,5—0,8	0,5—0,8	0,5—0,8	0,5—1,0

Продолж. табл. 2

1	2	3	4	5	6
36	1-3 x 0,4-1,0	2-5 x 1-1,2	2-5 x 1-1,2	2-6 x 1-1,2	3-9 x 1-1,2
6	1-1,5 x 0,3	1-1,5 x 0,4-0,5	1-2,5 x 0,4-0,7	2-4 x 0,5-1,0	4-5 x 0,8-1,0
9	0,6-1,7 x 0,3-0,8	1,5-3,0 x 0,6-0,7	1,5-3,0 x 0,6-0,7	2-6 x 0,8-1,0	3-8 x 0,8-1,0
42	0,7-0,8 x 0,4-0,5	3-5 x 1,5	3-6 x 1,5	3-6 x 1,5	3-12 x 1,5
4	1,6-1,8 x 0,2-0,3	3-5 x 1,25-1,5	3-5 x 1,5	3-5 x 1,5	4-6 x 1,5
2	0,6-1,8 x 0,3-0,9	1-2 x 0,5-0,6	1,5-5,0 x 1,0-1,2	2-6 x 1,5	2-6 x 1,5
33	1-2 x 0,2-1,4	2-4,5 x 1,25-1,5	3-5 x 1,5	2-6 x 1,5	2-6 x 1,25-1,5
26	1,0-1,2 x 0,7-0,8	1-2 x 1,25	1-2 x 1,25	2-6 x 1,25	4,5-9 x 1,5
27	1-1,3 x 0,5-0,6	1-1,5 x 0,5-0,6	1-1,5 x 0,5-0,6	3-5 x 0,5-0,6 ед. до 7μ	— x
35	0,5-0,6 x 0,4-0,5	1-2 x 0,5-0,6	1-3 x 0,5-0,6 ед. до 4μ	2-5 x 0,5-0,6	—
872	0,5-1,0 x 0,2-0,3	0,5-1,0 x 0,5-0,7	1,0-2,0 x 0,5-0,7	1-2,2 x 0,5-0,7	2-2,5 x 0,5-0,7
879	0,8-1,0 x 0,3-0,4	1-2 x 0,4-0,5	1,3-2,0 x 0,9-1,0	2-3 x 0,9-1,0	3-5 x 1,0-1,5
28	1-2 x 0,5-1,0	1-2 x 0,5-1,0	1-2 x 0,5-1,0	3-5 x 1-2	5-6 x 1-2

которых доходит до 10—20 μ. Причем почти половина всех изученных штаммов выдерживает концентрацию спирта 25 об. % и длина клеток достигает с 2 до 12 μ.

Необходимо отметить, что высокую концентрацию спирта выдерживают как штаммы выделенные из сухих, так и из крепленых вин. Среди всех изученных штаммов имеются единичные (8, 1, 21, 1053), не выдерживающие концентрации спирта 20 об.%, которые выделены из сухих и

сладких вин. Высокая спиртоустойчивость местных штаммов молочнокислых бактерий приводит нас к заключению, что только одно спиртование не исключает возможности развития молочнокислых бактерий.

Увеличение размеров клеток молочнокислых бактерий с повышением концентрации спирта вполне закономерно, так как общебиологическое значение влияния спирта заключается именно в том, что он подавляет функцию размножения клеток, при этом функция роста подавляется слабее. Таким же образом он действует на другие микроорганизмы, при развитии дрожжей его угнетающее действие проявляется в подавлении скорости почкования клеток. в то время, как количество клеток, участвующих в почковании, не уменьшается, а увеличивается [4, 5].

В ы в о д ы

При исследовании некоторых вин Октемберянского района Армянской ССР, нами было выделено около 50 штаммов молочнокислых бактерий, которые в основном отнесены к высокоспиртоустойчивым штаммам.

Экспериментальными данными установлено, что штаммы 36, 9, 26, 42 и др. хорошо развиваются в среде с концентрацией спирта 25 об. %, а штаммы № 5, 3, 1060, 27, 35, 880 с концентрацией спирта 20 об. %. Среди них встречаются единичные штаммы, развивающиеся в среде с концентрацией спирта 10—15 об. % (8, 1).

При изучении морфологических особенностей вновь выделенных штаммов молочнокислых бактерий выяснено, что у большинства штаммов с увеличением концентрации спирта в среде происходит увеличение размеров клеток.

Замечено также, что молочнокислые бактерии дают длинные нити и цепочки—(10—20 μ).

При развитии в среде с концентрацией спирта 25 об. % величина клеток достигает 10—12 μ , а в среде с концентрацией спирта 10 об. %—3—5 μ .

Армянский институт виноградарства,
виноделия и плодоводства

Поступило 24.III 1966 г.

Է. 2. ՊԵՏՅԱՆ

ԳԻՆՈՒ ԿԱԹՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ԽՄՈՐՈՒՄ ՀԱՐՈՒՅՈՂ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՍՊԻՐՏԱԴԻՄԱՑԿՈՒՆՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա. Վ Փ Ն Փ Ն Ն Վ

Բազմաթիվ հետազոտություններով պարզված է, որ կաթնաթթվային բակտերիաները դիմացկուն են սպիրտների, հտակապես էթիլ սպիրտի նկատմամբ: Նրանց բարձր դիմացկունությունը առաջացել է, հավանորեն, շաքարասնկերի հետ երկարատև գործունեության շնորհիվ:

Վերը նշված բակտերիաները հանդիսանում են գինու կաթնաթթվային խրմորման հարուցիչներ և մեծ վնաս են հասցնում գինեգործությանը, հատկապես հարավային երկրներում, ուստի նրանց ուսումնասիրությունը շատ ակտուալ է:

ՀՍՍՀ Հոկտեմբերյանի շրջանի որոշ գինիների ուսումնասիրության ժամանակ մենք անջատել ենք կաթնաթթվային բակտերիաների մոտ 50 կուլտուրա, որոնք հիմնականում բնորոշ են իրենց բարձր սպիրտադիմացկունությամբ:

Փորձնական տվյալներից երևում է, որ №№ 36, 9, 26, 42 և ուրիշ կուլտուրաները լավ զարգանում են 25 ծավ. % սպիրտի խտության պայմաններում, №№ 5, 3, 1060, 27, 35, 880 կուլտուրաները լավ զարգանում են 20 ծավ. % սպիրտի խտության պայմաններում:

Հանդիպում ենք եղակի կուլտուրաների (8, 1), որոնք լավ են զարգանում 10—15 ծավ. % սպիրտի խտության պայմաններում:

Նոր անջատված կաթնաթթվային բակտերիաների մորֆոլոգիական հատկությունների ուսումնասիրության ժամանակ պարզվում է, որ մեծ մասի մոտ, սպիրտի խտության բարձրացման հետ մեկտեղ, կատարվում է նաև բջիջների չափերի մեծացում:

Նկատվում է նաև, որ կաթնաթթվային բակտերիաները տալիս են երկար թելիկներ և շղթաներ (10—20 μ):

25 ծավ. % սպիրտի խտության պայմաններում բջիջների մեծությունը հասնում է 10—12 μ , , իսկ 10 ծավ. %-ի դեպքում՝ 3—5 μ :

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Андрусенко М. Я. Сб. Поч. и с/х микр. стр. 129—132, 1963.
2. Заславский А. С. Виноделие и виноградарство Молдавии, 1, стр. 27—29, 1952.
3. Квасников Е. И. Микробиология, т. XXI, вып. 2, стр. 160—165, 1952.
4. Квасников Е. И. Сб. микробиологических работ, вып. 2, Киев, 1938.
5. Квасников Е. И., Бугославская А. И. Бюллетень АН Узбек. ССР, 5, 1946.
6. Рибера-Гайон Ж. Виноделие, преобразование вина и способы его переработки. Пищепромиздат, Москва, 1956.
7. Саенко Н. Ф. Виноградарство и виноделие СССР, 2, стр. 22—26, 1950.
8. Саенко Н. Ф. Тр. конференции по микробиологии. Изд. АН СССР, М., стр. 33—49, 1952.
9. Шамис Д. Л., Медведева Л. Е. Изв. АН Казахской ССР, сер. микробиологическая, стр. 66—68, вып. 1, 1949.
10. Müller-Thurgau H., Osterwalder A. Die Bakterien im Wein und Obstwein und die dadurch verursachten Veränderungen G. Fischer, Jena, 1913.
11. Redisch G. F. Antiseptics, Desifectans, Fungici und chemical and Physicalsterilisation, Philadelphia, 1964.
12. Schlinzel A., Lingnau J. Arch. Hyg. and Bacter. v. 139, 4, 265—294, 1955.