

Б. П. АВАКЯН

ДЕЙСТВИЕ УЛЬТРАЗВУКОВЫХ ВОЛН НА ОСНОВНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ ВИНА

1. Влияние частоты, интенсивности ультразвуковых волн и экспозиции воздействия

В настоящее время накопились интересные факты, касающиеся актуальных проблем ультразвука, к числу которых относятся анализ и синтез биологически активных веществ, направленные изменения структуры и формы микробных клеток. Особое место занимают теоретические исследования в этой области и практическое применение действия ультразвуковых волн для регуляции жизнедеятельности микробных клеток.

Вопрос о биологическом действии ультразвуковых колебаний широко освещен в литературе. Установлено [11] бактерицидное действие ультразвуковых волн при обработке мелких рыб и определены интервалы их гибели. В ультразвуковом поле обнаружены [9] мгновенные разрывы бактериальных клеток и изменение их морфологических свойств.

При обработке дрожжей и дрожжеподобных культур с частотой 12 кгц в течение 30 сек в отдельных клетках наблюдались вспенивание протоплазмы, гранулы валютина и обломки хокдриосом. В люминесцентном микроскопе было отмечено усиление опалесценции клеток. При длительном озвучивании установлены грубые механические разрывы оболочки клеток. Изучено [5] действие ультразвуковых колебаний на бродильную способность винных дрожжей *Saccharomyces vini* и установлены режимы озвучивания для повышения бродильных свойств дрожжей. Под влиянием ультразвука выявлены [3] тонкие биохимические и функциональные изменения бактериальных клеток, выражающиеся в стимулировании или, наоборот, угнетении разных сторон жизнедеятельности бактерий. Выявлен [6] механизм разрушения клеток винных дрожжей и обнаружено, что резонансные колебания приводят к разрушению оболочки. Изучено [1—3] действие ультразвуковых волн на микроорганизмы и установлены принципы инактивации дрожжевых культур в различных условиях воздействия.

Для выяснения действия ультразвуковых волн на уксуснокислые, молочнокислые бактерии и винные дикие дрожжи вина нами были предприняты специальные исследования.

Озвучивание проводилось в специальных камерах с применением ультразвуковых генераторов (УЗГ-2 с кварцевыми пластинками на частоте 500 кгц, 1000 кгц и 3000 кгц и УЗГ 10М с магнитострикционными преобразователями на частоте 19,5, 21 кгц, мощность озвучивания была в пределах 3,0—3,8 кв).

До обработки микроорганизмов общепринятыми методами устанавливались морфологические, физиологические, культуральные и биохимические свойства исходных культур. После каждого воздействия определялась выживаемость дрожжей и устанавливался характер их изменчивости путем посева на соответствующие жидкие и с агаром питательные среды. Проводилась микроскопия препаратов. В счетной камере устанавливалась концентрация клеток до и после озвучивания. Количество колоний, выросших на различных средах, определялось через 48—72 час. инкубирования (температура 25°—30°). Требуемая концентрация микроорганизмов была получена путем соответствующих разбавлений.

Большую роль в увеличении бактерицидного эффекта ультразвука играет частота волн. На это указывают различные авторы. Исследована, в частности, выживаемость дрожжей *Schisosaccharomyces acidodevogalus* в зависимости от частоты ультразвуковых волн [4]. Озвучивание сред с дрожжами проводилось при частоте 0,6 мгц, 1 мгц. Как отмечают авторы, максимальная гибель (до 0,002%) наблюдалась при высокой частоте.

Для установления влияния частоты ультразвуковых волн на жизнедеятельность вина нами были поставлены специальные опыты. Постоянными были толщина обрабатываемого слоя (1,0 мм) и экспозиция (10 мин). Учет выросших колоний показал, что бактерицидный эффект сильно зависит от частоты ультразвука. При повышении частоты ультразвука дрожжи *Saccharomycodes ludwigii* подвержены наибольшему угнетению. Установлено, что дикие дрожжи *Candida mycoderma* (штамм П-5) резистентнее других культур. Сравнивая результаты озвучивания микроорганизмов, можно отметить, что при частоте 20 кгц угнетение микроорганизмов слабее, чем при озвучивании взвеси на частотах 500—1000 кгц. В условиях максимальной частоты (1000 кгц) больше угнетались дрожжи *Saccharomycodes ludwigii*, уксуснокислые бактерии и винные дрожжи *S. vini*. По степени угнетения культуры располагались в следующем порядке: *Hanseniaspora apiculata*, *Torulopsis utilis* и *Pichia alcoholophila*.

Химический и органолептический анализ обработанных вин показал, что с повышением частоты ультразвука выше 21 кгц наблюдается снижение спиртуозности вина. В них появляются тона окисленности. Большое значение для усиления бактерицидного эффекта ультразвуковых волн имеет интенсивность озвучивания.

В литературе имеются указания на то, что повышение интенсивности (0,5—0,6 вт/см²) способствует усилению бактерицидного эффекта против палочковидных бактерий [10]. Отмечается также [12] существование нижнего и верхнего пределов бактерицидного эффекта ультразвука при обработке микобактерий. Минимальной интенсивностью автор считает величину 0,5 вт/см² излучающей поверхности. С повышением интенсивности эффект угнетения заметно усиливался.

Для установления выживаемости микроорганизмов вина, обработанных при различной интенсивности (частота—20 кгц, толщина слоя—10 мм, продолжительность обработки—10 мин), также были проведены специальные исследования. Полученные данные показывают, что повышение интенсивности ультразвука приводит к значительному угнетению жизнедеятельности бактерий и дрожжей. Сильно сокращается число выживших дрожжей (*S. ludwigii*, *S. vini*), уксуснокислых (*Acetobacter acetii*, штамм 3) и молочнокислых бактерий (*Lactobacterium plantarum*, штамм 8). При обработке диких дрожжей повышение интенсивности озвучивания также приводит к уменьшению выживаемости клеток, но в меньшей мере, чем в случае винных дрожжей и бактерий. Наиболее устойчивыми оказались дрожжи *C. mycoderma* (штамм П-5), далее *T. utilis* (штамм 183/8) и *H. apiculata* (штамм 12).

Экспозиция озвучивания микроорганизмов также влияет на бактерицидный эффект ультразвука. В этих опытах обработка жидких сред с бактериями и дрожжами проводилась (частота—20 кгц, интенсивность озвучивания—3,0—3,9 кв, толщина слоя—10 мм) с продолжительностью воздействия 10, 20 и 30 мин.

Полученные результаты показывают, что при 10-минутном воздействии ультразвуком молочнокислых бактерий было около 350 колоний, уксуснокислых—226, а дрожжей—400. После 20-минутной экспозиции число колоний резко уменьшилось и составляло: молочнокислых бактерий—42, уксуснокислых—26, а дрожжей—138. Губительной была 30-минутная экспозиция. При просмотре озвученных микробов под микроскопом были обнаружены различные повреждения клеток. У молочнокислых бактерий наблюдалось удлинение клеток с 2—4 м до 15—20 м, встречались также раздробленные.

В варианте с уксуснокислыми бактериями не было характерных цепочек. Встречались разрозненные клетки увеличенного размера. Отдельные бактериальные клетки были разрушены. В ряде случаев сразу после озвучивания в протоплазме дрожжевых клеток наблюдалось появление зернистости. Бактерии были разбухшими и деформированными. Клеточная стенка отдельных дрожжей была повреждена, а некоторые клетки вовсе раздроблены на мелкие гранулы и осколки.

Таким образом, изменяя частоту ультразвуковых волн, мощность озвучивания и экспозицию воздействия, можно достичь разного уровня бактерицидного эффекта. Направленное воздействие на микроорганизмы вина ультразвуком приводило к регуляции некоторых особенностей жизнедеятельности дрожжевых и бактериальных клеток. Изменением факторов воздействия достигнута некоторая морфологическая и физиологическая изменчивость изучаемых микроорганизмов.

Բ. Պ. ԱՎԱԴՅԱՆ

ՈՒՆՏՐԱՉԱՅՆԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԳԻՆՈՒ ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Ուսումնասիրվել է ուլտրաձայնի ազդեցությունը միկրոօրգանիզմների վրա: Դրա համար միկրոօրգանիզմները մշակվել են հատուկ սարքում 21 կՀց հաճախականությամբ և տարբեր հզորությամբ ու ժամանակով: Պարզվել է, որ գինու շաքարասնկերը և քացախաթթվային ու կաթնաթթվային բակտերիաները տարբեր ձևով են ազդվում ուլտրաձայնից: Հաճախականության բարձրացման ժամանակ 21 կՀց — 3000 կՀց առաջանում են այնպիսի սլայմաններ, երբ հնարավոր է լինում կարգավորել բջիջների կենսունակության որոշ հատկություններ:

Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ինտենսիվության դոզան 3,1 կՀց ավելի բարձրացնելու դեպքում միկրոօրգանիզմները ոչնչանում են: Որոշ դեպքում ստացվում են ստուգիչի համեմատությամբ ավելի մեծ բջիջներ: Նկատվել են նաև ձևաբանական և ֆիզիոլոգիական փոփոխություններ այն միկրոօրգանիզմների մոտ, որոնք մշակվել են բարձր ինտենսիվության սահմաններում տարբեր ժամանակներում մշակված շաքարասնկերը և բակտերիաները միատեսակ չեն ազդվում ձայնահարումից:

Այսպիսով, ուլտրաձայնի միջոցով հնարավոր է կարգավորել գինու շաքարասնկերի և բակտերիաների կենսունակությունը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Авакян Б. П. Тез. докл. IV Международн. конгр. по микробиологии, М., 1966.
2. Авакян Б. П. ДАН АрмССР, XVII, 1968.
3. Авакян Б. П. Биологический журнал Армении, XXIII, 10, 1970.
4. Гнущенко Н. К., Штромбергер А. В., Гумилевская Л. Г. Микробиология, 25, 566, 1956.
5. Дербенева Г. Г. Виноделие и виноградарство СССР, 6, 12, 1958.
6. Лепендин Л. Ф., Устинова В. А. Биофизика, XII, вып. 2, 268, 1960.
7. Медведева Г. А., Эльпинер И. Е. Общая биология, 16, 4, 315, 1955.
8. Фадеева Н. П., Эльпинер И. Е., Раутенштейн Я. И. Микробиология, 30, вып. 5, 849, 1961.
9. Horvey E. N., Loomis A. L. J. Gen. Physiol. 15, 147, 1932.
10. Horton J., Horwood M., Minch V. Amer. Water. Works Ass., 1, 43, 153, 1951.
11. Langevir P. Cit. by Soundeur Ultrasonore Rech. et Invent, 86, 1926.
12. Mackeprang B. Acta Tuberc. Scand., 34, 397, 1957.