

УДК 663.18

**Данилова А.Н.**, студент 2 курса магистратуры  
кафедры «Технологии бродильных производств и виноделие»

**Цыганова Г.А.**, студент 4 курса бакалавриата  
кафедры «Технологии бродильных производств и виноделие»

**Шабурова Л.Н.**, канд. техн. наук, доцент  
кафедры «Технологии бродильных производств и виноделие»

**Гернет М.В.**, д-р техн. наук, профессор,  
зав. кафедрой «Технологии бродильных производств и виноделие»,  
Московский государственный университет пищевых производств,  
г. Москва, Российская Федерация

### **ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РАЗЛИЧНЫЕ ФОРМЫ МИКРООРГАНИЗМОВ**

Большое значение в бродильных производствах имеет микробиологический контроль используемых культур. В одних производствах микроорганизмы могут быть, как необходимым составляющим компонентом, а в другом служить контаминантом. Одним из наглядных примеров является производство пива и кваса. При производстве пива используются чистые культуры дрожжей, наличие микроорганизмов вредителей, в том числе молочнокислых, не допускается. Эти микроорганизмы усложняют технологический процесс и ухудшают качество готового продукта. Но при изготовлении кваса молочнокислые бактерии являются обязательной культурой, используемой в технологии.

Потенциальными вредителями пива являются грамположительные и грамотрицательные бактерии, дикие дрожжи и мицелиальные грибы. Из практических наблюдений на пивоваренных заводах чаще инфицируют пиво молочнокислые бактерии и педиококки, которые влияют на физико-химические и органолептические показатели, срок хранения продукта.

Одним из перспективных методов регулирования физиологической деятельности микроорганизмов является лазерное излучение. Из литературных источников известно его применение в медицине, пищевой промышленности, физико-химических, биологических, биотехнологических направлениях, расширяется область изучения в научных исследованиях [1, с.18; 2, с.193; 5, с.55].

В работе [3, с.14] предложены варианты применения разнонаправленности действия лазерного излучения в пищевых производствах для интенсификации технологических процессов и повышения микробиологической чистоты.

Задача представленной работы- изучение влияния низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) на микроорганизмы бродильных производств на основе применения устройства лазерной терапии «Матрикс» 2-х канальный (импульсный режим инфракрасного излучения).

В экспериментах были использованы дрожжи верхового брожения *Saccharomyces cerevisiae*, бактерии педиококки вида *Sarcina spp* и палочковидные спорообразующие *Bacillus subtilis*. Культуры данных микроорганизмов получены из коллекции МГУПП, кафедры «Технологии бродильных производств и виноделие».

Для разведения микроорганизмов готовили дрожжевую и бактериальную суспензию, используя пивное сусло с экстрактивностью 12%. Концентрация исследуемых образцов: *S.cerevisiae*  $0,6 \cdot 10^8$ ; *Sarcina spp*  $0,3 \cdot 10^8$ ; *Bacillus subtilis*,  $4 \cdot 10^8$ . Разведение подбирали с целью получения отдельных колоний. Обработку объектов исследования проводили путем применения НИЛИ с импульсной частотой 600 Гц и 3000 Гц и мощностью 5 Вт время воздействия составляло 2, 5 и 10 минут, расстояние от излучателя до объекта составляло 0,5 см, толщина слоя 1 см. Жизнеспособность клеток определяли путем высева суспензии на элективную твердую питательную среду поверхностным методом. Количественный учет колоний осуществляли после культивирования исследуемых суспензий в течение 72 часов при температуре 28°C. В качестве контроля использовали необработанные НИЛИ образцы, выращенные в аналогичных условиях. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Количество жизнеспособных клеток микроорганизмов

Время воздействия, мин	Частота НИЛИ, Гц							
	600		3000		600		3000	
	Количество КОЕ							
	S.cerevisiae		Bacillus subtilis		Sarcina spp			
Контроль	580		40		50			
2	1500	620	10	10	10	50		
5	580	900	100	100	20	40		
10	860	760	140	30	30	40		

При количественном учете клеток дрожжей *S.cerevisiae* в образце, при обработке в течении 2 минут, частота 600 Гц, наблюдается увеличение числа колоний образующих единиц (КОЕ) в 2,6 раза (260%), по сравнению с контролем (100%). При воздействии на исследуемые образцы в течении 5 и 10 минут наблюдается увеличение КОЕ на 15% (см. рис.1).

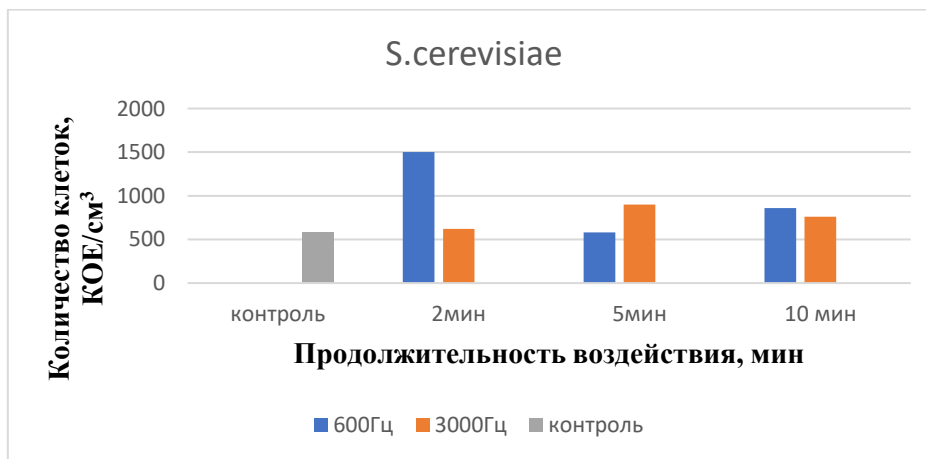


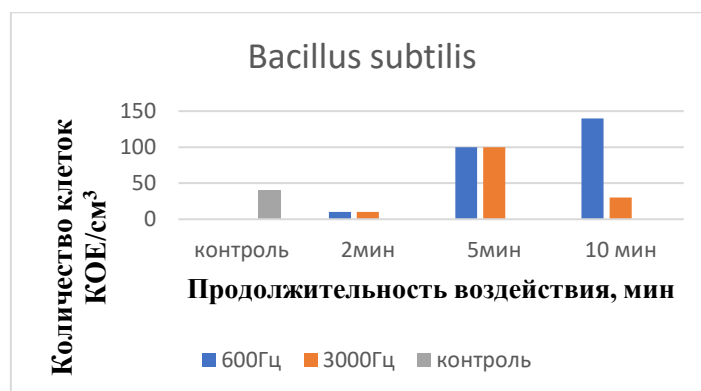
Рис. 1. Влияние низкоинтенсивного излучения на дрожжи

Результаты показывают стимулирующее воздействие на дрожжи *S.cerevisiae*. Предположительно, действие такого эффекта - влияние на клеточную мембрану и митохондрии [4,с.76]. Известно, что митохондрии являются первичной мишенью для лазерного излучения. Повышение энергетической активности биологических мембран, приводит к изменению биоэлектрических процессов, увеличивается активность транспортных веществ через мембрану, усиление основных биоэнергетических процессов, в частности, окислительное фосфорилирование. Но если нарушается структура и функции митохондрий это приводит к цитологическим повреждениям: снижению потребления кислорода, кальций-аккумулирующей способности, увеличению проницаемости мембран и понижению ионного потенциала, прекращению окислительного фосфорилирования и общей дезорганизации метаболизма.

В ходе исследований обратили внимание на действие НИЛИ на микроорганизмы-контаминанты при тех же параметрах воздействия (см. рис.2, рис.4).

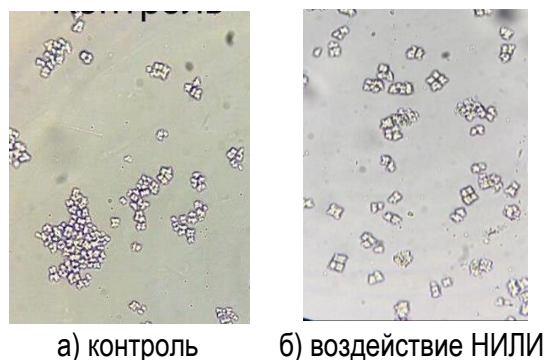
Ингибирующее воздействие *Bacillus subtilis* НИЛИ проявилось в образцах облучаемые в течение 2 минут, при частотах 600 и 3000 Гц, а также 10 минутах при частоте 3000 Гц (см. рис.2). Количество жизнеспособных клеток уменьшилось в 4 раза (на 75%), по сравнению с контролем.

При воздействии с установленными параметрами импульсной частоты в течении 5 и 10 минут происходит увеличение жизнеспособных клеток (на 350%).



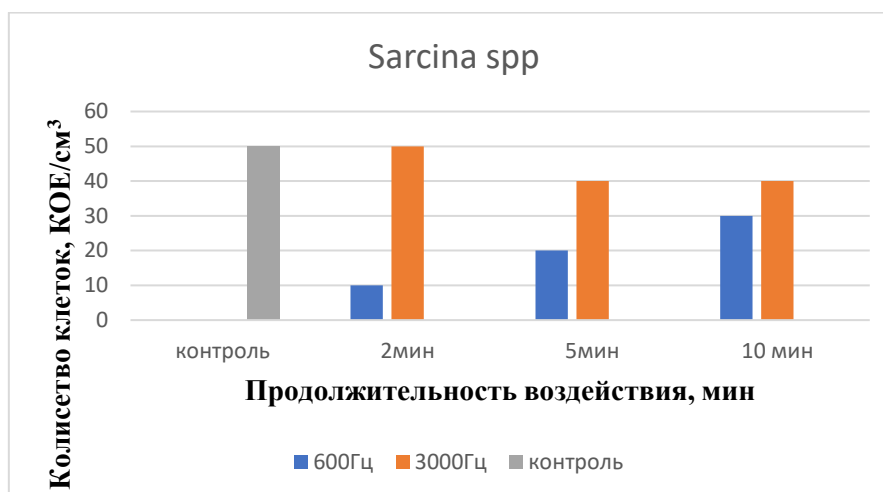
**Рис. 2.** Влияние низкоинтенсивного излучения на *Bacillus subtilis*

При микроскопическом анализе бактерий рода *Sarcina* наблюдается разрушение структурных форм “пакетов” на более мелкие скопления и единичные кокки, по сравнению с контролем (Рис.3 а, б).



**Рис. 3.** Микроскопический анализ

Наиболее эффективное бактерицидное действие на бактерии - контаминанты происходит при обработке 2 минуты с импульсной частотой 600 Гц.



**Рис. 4.** Влияние низкоинтенсивного излучения на *Sarcina spp*

Из литературных источников [1, с.17; 4,с.76 ] выяснено, что НИЛИ влияет на энергетическую активность и конформационное состояние мембран, ферментные системы, биосинтетические и окислительно-восстановительные процессы, структурно-функциональные преобразования межклеточного пространства, которые отражаются в биохимических процессах клетки. Степень выраженности стимулирующего или повреждающего действия зависит от типа клетки, параметров.

Разница в эффекте НИЛИ на различные формы микроорганизмов заключается в строении эукариотических и прокариотических клеток, неодинаковой чувствительности структур. В эукариотической клетке, при воздействии на нее НИЛИ, происходит изменение содержания нуклеиновых кислот (ДНК, РНК) в ядрах клеток, что стимулирует процесс размножения. Палочковидные бактерии имеют способность образовывать споры, этот процесс не является способом размножения. Эти бактерии отличаются устойчивостью не только к нагреванию, высушиванию, но и к коротковолновому облучению [7,с.26]. В процессе спорообразования происходит ряд биохимических реакций, структурных изменений выполняющие защитную роль от неблагоприятных факторов.

Заряд облучаемой клетки и среды влияет на результат действия, так как происходит изменение поверхностного заряда и мембранного потенциала. Создание электрического заряда выше предельной электростатической способности клеток и/или усиление внутриклеточного и внеклеточного осмоса до определенной степени, вызывает необратимые изменения, приводящие к разрушению клеточной оболочки и гибели микроорганизма [6]. Дрожжи, находящиеся в состоянии покоя, обладают положительным зарядом, в зависимости от вида и условий, могут изменять его, так после внесения в сусло во время размножения, они приобретают отрицательный заряд. В то время, прокариотическая клетка имеет всегда отрицательный заряд.

По результатам проведенных экспериментов можно сделать вывод, что для активации дрожжей и ингибирования контаминантов можно применять обработку НИЛИ с импульсной частотой 600 Гц, мощностью 5 Вт и продолжительностью 2 минуты. Исследование в данном направлении продолжается и результаты экспериментов будут опубликованы в следующих статьях.

### Список использованной литературы

1. Баврина А.П. Влияние низкоинтенсивного света на функциональное состояние внутренних органов при их альтерации: Дисс. ... д.б.н. — Нижний Новгород: Нижегородская государственная медицинская академия, 2015. — 343 с.
2. Будаговский А.В., Будаговская О.Н., Мищенко А. Лазерные технологии для растениеводства // Субтропическое и декоративное садоводство: сб. науч. тр. / ГНУ ВНИИЦиСК Россельхозакадемии. 2014. Вып. 51. С. 207-214.
3. Данилова А.Н., Пономарева М.С., Гернет М.В., Шабурова Л.Н. Влияние лазерного излучения на молочнокислые бактерии // Хранение и переработка сельхозсырья. 2017. №12. С. 12-14.
4. Кару Т.И. Современные лазерно-информационные и лазерные технологии. Сб. тр. ИПЛИТ РАН. М.: Интерконтакт Наука, 2005. - 304 с.
5. Москвин С.В. Эффективность лазерной терапии. Серия «Эффективная лазерная терапия». Т. 2. – М.–Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2014. С. 55-57.
6. Патент РФ №2108113, заявка 96102855 от 14.02.1996г. Способ инактивирования или разрушения микроорганизмов: Кандзи Есида, Теруаки Сумиока, Хайтао Ксу.
7. Тейлор Д., Грин Н., Стаут У. Биология: в 3 т. Т. 1 / под ред. Р. Сопера; пер. 3-го англ. изд. — 6-е изд. — М.: Бином. Лаборатория знаний, 2014. — 454 с.

© Данилова А.Н., Цыганова Г.А.,  
Шабурова Л.Н., Гернет М.В., 2018