

EVALUAREA EFECTULUI DE INACTIVARE PRIN TRATAMENT PEF A GERMENILOR DE ALTERARE A VINURILOR

**Aurelia TUDORACHE¹, Elena BRINDUSE¹,
R. CRAMARIUC², Laura FOTESCU¹,
I. NAMOLOSANU³, Mona POPA³,
Diana Elena TUDORACHE⁴**

¹I.C.D.V.V., Valea Valugareasca
e-mail: icdvv.vie.vin@xnet.ro

²CCEE Bucuresti
e-mail: incsee_c@mc.ro

³U.S.A.M.V. Bucuresti
e-mail: post@info.usamv.ro

⁴Universitatea din Bucuresti
e-mail: secretariat@chem.unibuc.ro

The treatment in Pulsed Electric Field (PEF) represents an application of PEF technology to feeding liquids in order to render them sterile. The present study was initiated due to the fact that this treatment is of utmost importance for the enological area. The objective which was followed consisted in evaluating the inactivation effects produced by PEF treatment applied to the germs responsible for wine damaging. Two experiments were carried out, one of them being under specialized control, the other one concerning the natural development of the germs in wines.

*The variable factor of the controlled experiment was represented by the type of germs (yeast strains and, respectively stems of bacteria), and in case of the natural experiment, the level of wine stability. The studied germs were *Saccharomyces fermentati*, *Leuconostoc oenos* (P+) 149, *Leuconostoc oenos* (X+), *Lactobacillus plantarum* 36, *Acetobacter vini* VRI and *Acetobacter vini* VA1. The level of wine stability was of 5, 4 and 3 in case of the wines taken into study.*

*The results obtained emphasized the fact that PEF treatment significantly influences the viability of the germs responsible for wine damaging, their sensitivity being however specific to the group and species of microorganisms. The strongest bactericide effect was registered in case of the lactic bacteria belonging to *Leuconostoc oenos* (P+) species to which the diminution rate was of 3.45. *Saccharomyces fermentati* had the diminution rate value of 2.95. *Leuconostoc oenos* (X+) and *Lactobacillus plantarum* 36 revealed an average resistance to PEF treatment, their diminution rate registering 2.47. The acetic bacteria proved to be the most resistant, maybe because of the tiny dimensions of their cells.*

The PEF treatment applied to the wines contaminated by damaging germs significantly diminished their microbial load. The germ diminution rate oscillated according to the nature of the contaminating agent and to the

treatment length of time. Between the level of wine stability and the diminuation rate of the microorganisms, a direct relationship of 1st grade was registered.

The study which was carried out proved that the PEF treatment represents a real potential for accomplishing wine sterilization.

Keywords: wine, Pulsed Electric Field, inactivation, damaging germs, contaminatig agent.

Campul electric pulsatoriu (PEF) actioneaza asupra sistemelor biologice. El distruge bariera semipermeabila a membranei celulare [3, 1] si formeaza pori in aceasta [9, 7]. Efectul tratamentului PEF este pierderea materialului intra-celular si implicit moartea celulelor. La nivelul celulei microbiene porii au fost identificati in matricea lipidica a membranelor celulare [8]. Valoarea potentialului electric indus care determina distrugerea celulei este specifica microorganismului. Studiile realizate au aratat ca valoarea critica pentru *E. coli* este de 1 V, corespunzatoare unui camp extern de circa 10 kV/cm. Atunci cand celula se distruge, porii au un diametru mediu de 5,3 μ. Procesul de distrugere a celulei in PEF este cunoscut sub numele de electroplasmoliza [4, 2].

Tehnologia PEF are multiple aplicatii, printre acestea numarandu-se si pasteurizarea non-termica a produselor alimentare lichide [1]. Literatura de specialitate mentioneaza ca impulsurile electrice PEF de pana la 2 kV inactiveaza microorganismele *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus lysodeikticus*, *Sarcina lutea*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus megatherium*, *Clostridium welichii*, *Pseudomonas ssp*, *Saccharomyces cerevisiae* si *Candida utilis* [5].

Aplicatiile tehnologiei PEF in domeniul oenologie sunt studiate in Franta. ITV Franta a experimentat tehnologia PEF pentru stabilizarea vinurilor [11]. Primele experimente au evidenciat eficacitatea tratamentului PEF asupra drojdiilor si bacteriilor din vin.

Obiectivul acestui studiu este de a evalua efectele de inactivare a tratamentului PEF asupra germenilor de alterare a vinurilor.

MATERIAL ȘI METODĂ

Studiul are doua experimente, unul controlat si altul natural, realizate in conditii de laborator.

Echipamentul de laborator pentru tratamentul PEF (*fig. 1*) a fost proiectat si realizat de CCEE Bucuresti. El este constituit din generator de impulsuri (1), reactor (2) si camera de tratament (3).

Generatorul de impulsuri are urmatoarele caracteristici: impulsuri bipolare, 30 kV tensiune maxima in impuls si 800 Hz frecventa de repetitie a impulsurilor.

Reactorul este pentru descarcare corona si realizeaza impulsuri cu intensitatea de 20 kV/cm. Camera de tratament este din teflon si are dimensiunile de 200x300x110 mm. Distanta dintre electrozi este de 10 mm.

Experimentul controlat s-a realizat pe suspensii de microorganisme care sunt germeni de alterare a vinurilor. Microorganismele studiate au fost: *Saccharomyces*

fermentati, *Leuconostoc oenos* (P+) 149, *Leuconostoc oenos* (X+), *Lactobacillus plantarum* 36, *Acetobacter vini* VR1 și *Acetobacter vini* VA1. Ele au provenit din Colectia de germoplasma a I.C-D.V.V. Valea Calugareasca. Suspensia a fost realizata in vin alb steril.

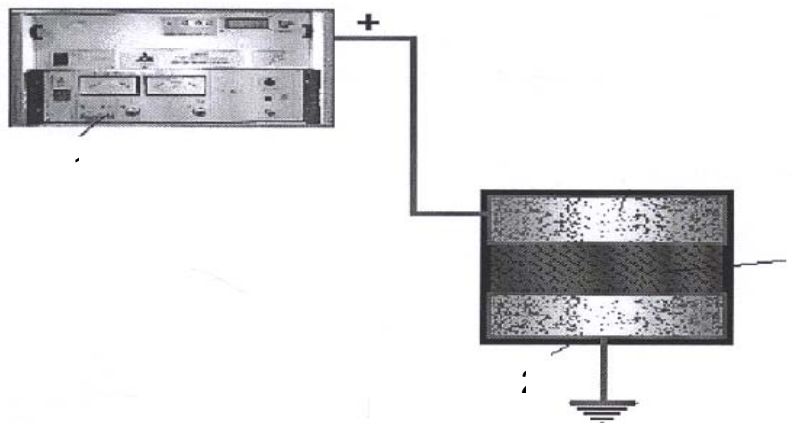


Figura 1. Echipament de laborator pentru aplicarea tratamentului PEF

Experimentul natural s-a realizat pe vinuri care au prezentat diferite infectii microbiene, de nivel 5 ($10.000 < UFC < 100.000$), 4 ($100 < UFC < 10.000$) și 3 ($10 < UFC < 100$).

Efectul de inactivare prin tratament PEF s-a evaluat pe baza incarcaturii microbiene, exprimata in „Unitati Formatoare de Colonii/ml” (UFC) (Resolution oeno 8/95) [10]. Rata de reducere a incarcaturii microbiene este log (Ni/Nf), in care Ni, Nf este valoarea UFC a lichidului inainte si dupa tratament.

Datele primare au fost prelucrate statistic, prin analiza variantei [6] si grafic.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Tratamentul PEF aplicat suspensiilor de microorganisme din grupa germenilor de alterare a vinurilor, a influentat semnificativ viabilitatea acestora (tab. 1).

Tabelul 1

Analiza variantei pentru evaluarea efectului de inactivare prin tratament PEF a germenilor de alterare a vinurilor

Cauza variabilitatii	SP	GL	s ²	Proba F	
				calculata	teoretica
Germen de alterare a vinului: <i>Saccharomyces fermentati</i>					
Totala	15353140.9	8			
Repetitii	4512.8	2			
Variante	15340061.5	2	7670030.8	3581.39	6.94
Eroare	8566.5	4	2141.6		
Germen de alterare a vinului: <i>Leuconostoc oenos</i> (P+) 149					
Totala	321179095	8			
Repetitii	222133.4	2			
Variante	320512428	2	16025621 4	1442.01	6.94

Cauza variabilitatii	SP	GL	s ²	Proba F	
				calculata	teoretica
Eroare	444534	4	111133.6		
Germe de alterare a vinului: <i>Leuconostoc oenos</i> (X+)					
Totala	2493622.8	8			
Repetitii	282.2	2			
Variante	2493101.4	2	1246550.7	20839.1	6.94
Eroare	239.3	4	59.8		
Germe de alterare a vinului: <i>Lactobacillus plantarum</i> 36					
Totala	5348509.1	8			
Repetitii	95448.0	2			
Variante	5047288.1	2	2523644.1	49.06	6.94
Eroare	205772.9	4	51443.2		
Germe de alterare a vinului: <i>Acetobacter vini</i> VR1					
Totala	125.3	8			
Repetitii	0.1066	2			
Variante	124.46	2	62.23	321.87	6.94
Eroare	0.7733	4	0.193		
Germe de alterare a vinului: <i>Acetobacter vini</i> VA1					
Totala	1091313.0	8			
Repetitii	158.7	2			
Variante	1090845.9	2	545422.97	7075.35	6.94
Eroare	308.4	4	77.09		

Rata de reducere a incarcaturii microbiene a germenilor de alterare a vinurilor a fost specifica fiecarui tip de microorganism. Cele mai sensibile la tratamentul PEF au fost bacteriile lactice din specia *Leuconostoc oenos* (P+) 149 care au avut o rata de reducere de 3.45. Le-a urmat *Saccharomyces fermentati* cu o rata de reducere de 2.95 si *Leuconostoc oenos* (X+) si *Lactobacillus plantarum* 36 care au avut aceeasi rata de reducere (2.47). Cele mai rezistente la tratamentul PEF au fost bacteriile acetice, probabil datorita faptului ca ele au fost si cele mai mici (0.2/0.3 μ) (fig. 2).

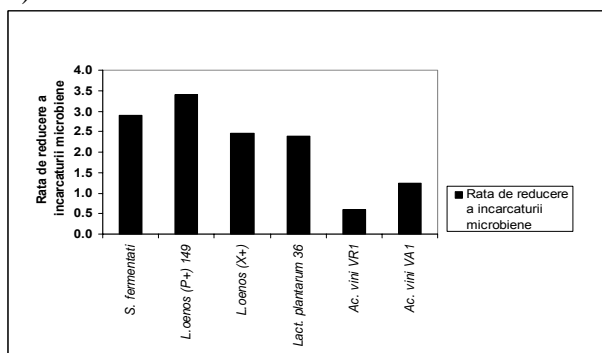


Figura 2. Efectul tratamentului PEF asupra ratei de reducere a incarcaturii microbiene a germenilor de alterare a vinurilor

Tratamentul PEF s-a aplicat si vinurilor infectate cu germeni de alterare. Experimentul s-a realizat pe un numar de 25 de vinuri, dintre care 12 au avut nivelul 5 de stabilitate, 6 nivelul 4 si 7 nivelul 3 (tab.2).

Tabelul 2

**Numarul vinurilor studiate pentru evaluarea efectului de inactivare
prin tratament PEF a germenilor de alterare**

Nr. crt.	Nivelul de stabilitate	Vinuri albe	Vinuri rosii
1	5	7	5
2	4	3	3
3	3	2	5

Tratamentul PEF aplicat vinurilor infectate cu germeni de alterare a calitatii a redus substantial incarcatura microbiana a acestora. Rata de reducere a incarcaturii microbiene s-a corelat cu nivelul de stabilitate microbiologica a vinurilor. Intre rata de reducere a incarcaturii microbiene si nivelul de stabilitate microbiologica a vinului s-a stabilit o relatie de gradul 1 (fig. 3), care a avut urmatoarea forma:

$$Y=0.9007x-0.7383$$

Cea mai mare rata de reducere a incarcaturii microbiene s-a inregistrat la vinurile cu nivelul de stabilitate 5 (media de 3.71) iar cea mai mica la vinurile de nivel 3 (media 1.87).

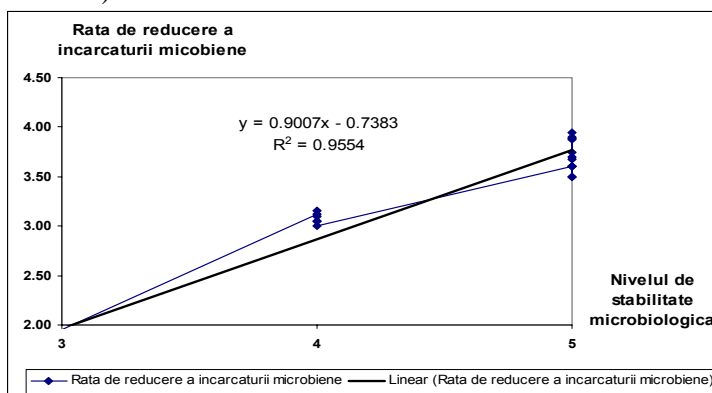


Figura 3. Corelatia dintre rata de reducere a incarcaturii microbiene si nivelul de stabilitate microbiologica

CONCLUZII

Tratamentul (PEF) aplicat suspensiilor de germeni de alterare a vinurilor a fost foarte eficient asupra speciilor *Leuconostoc oenos* (P+), *Saccharomyces fermentati*, *Leuconostoc oenos* (X+) si *Lactobacillus plantarum* 36 si eficient asupra bacteriilor acetice.

Tratamentul (PEF) aplicat vinurilor infectate cu germeni de alterare a redus integral incarcatura microbiana a vinurilor cu nivel de stabilitate 3. La vinurile cu nivelul de stabilitate microbiologica 4 si 5 reducerea a fost partiala.

Tehnologia PEF prezinta perspective pentru a fi aplicata la stabilizarea vinurilor, fiind necesare investitii suplimentare pentru a se trece la stadiul industrial.

BIBLIOGRAFIE

1. Barbosa-Canovas GV, Pierson MD, Zhang QH, Schafner DW. 2000. Pulsed electric fields. *J Food Sci*, n° 65 (supplement) , pag. 65-79.
2. Gudmundsson M, Mafsteinnsson H. 2001. Effect of electric field pulses on microstructure of muscle food and roes. *Trends Food Sci Technol*, n° 12, pag. 122-128.
3. Knorr D, Angersbach A. 1998. Impact of high intensity electric field pulses on plant membrane permeabilization. *Trends Food Sci technol* 9, pag. 185-191.
4. McLellan MR, Kime RL, Lind LR. 1991. Electroporation and other treatments to improve apple juice yield. *J Sci Food Agric* n° 57, pag. 303-306.
5. Niculita Petru, Popa Mona, Belc Nastasia, 2006, *Bioinginerie si biotehnologii alimentare*, vol. 1, Editura Academiei Române.
6. Saulescu N.A., Saulescu N.N., 1967. *Campul de experienta*. Ed. Agro-silvica Bucuresti.
7. Teissie J, Eynard N., Gabriel B, Rols MP. 1999. Electroporation of cell membranes. *Advand Drug Delivery Rev*, n° 35, pag. 3-19.
8. Weaver JC, Chizmadzhev YA, 1996. Theory of electroporation: a review. *Bioelectrochem Bioenerg*, n° 41, pag. 135-160.
9. Winterhalter M, Helfrich W. 1987. Effect of voltage on pores in membranes. *Phys Rev A*, n° 36(12), pag 5874-5876.
10. *** 2006. *Recueil des methodes Internacionales d'analyse des vins et des mouts*. OIV.
11. *** Site WWW.itvfrance.com