

УДК 663.241:577.15

DOI 10.30679/2587-9847-2020-29-293-299

ОЦЕНКА ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА ДУБОВОЙ ДРЕВЕСИНЫ ДЛЯ ВЫДЕРЖКИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ДИСТИЛЛЯТОВ

Резниченко К.В., к.т.н, Антоненко М.В., к.т.н, Алейникова Г.Ю., к.с.-х.н,
Антоненко О.П., к.т.н, Глоба Е.В., аспирант

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», Краснодар, Россия

Реферат. Повышение эффективности использования древесины дуба в коньячном производстве может быть достигнуто путем реализации приемов активации, основанных на биокатализе, так как процессы, протекающие при естественной сушке древесины, имеют биохимическую основу. Использование биотехнологических методов позволяет повысить экологизацию процесса производства, так как в настоящее время активацию процесса созревания дубовой клепки традиционно осуществляют с использованием кислотного и щелочного гидролиза. В процессе исследования были выделены микроорганизмы, развивающиеся на поверхности дубовой клепки различного срока выдержки, определена величина адсорбции на поверхности древесины, характеризующая ее структурные изменения в процессе выдержки, а также определено влияние ферментативного катализа древесины дуба на формирование комплекса экстрактивных компонентов выдерживаемых коньячных дистиллятов в сравнении с используемыми методами термической и химической обработки.

Ключевые слова: ферментативный катализ дубовой древесины, сельскохозяйственные дистилляты

Summary. Increasing the efficiency of using oak wood in cognac production can be achieved by implementing activation techniques based on Biocatalysis, since the processes that occur during natural drying of wood have a biochemical basis. The use of biotechnological methods makes it possible to increase the ecologization of the production process, since at present the activation of the oak rivet maturation process is traditionally carried out using acid and alkaline hydrolysis. In the course of the study, microorganisms that develop on the surface of oak rivets of different aging periods were identified, the amount of adsorption on the surface of wood that characterizes its structural changes during aging was determined, and the effect of enzymatic catalysis of oak wood on the formation of a complex of extractive components of aged cognac distillates in comparison with the methods of thermal and chemical treatment used was determined.

Keywords: enzymatic catalysis of oak wood, agricultural distillates

Введение. Созревание коньячных дистиллятов в контакте с древесиной дуба является основным этапом производства коньяков, а способ ее предварительной обработки является определяющим фактором, влияющим на формирование состава экстрагируемых компонентов коньячной продукции. Научный интерес в области производства коньячной продукции представляет совершенствование способов предварительной обработки древесины перед выдержкой с целью снижения потерь и повышения качества готовой продукции. Наиболее эффективными и популярными методами, применяемыми на практике, является термическая обработка [1, 2, 3] и

химические способы обработки древесины [4, 5], позволяющие существенно улучшать качественные показатели получаемой продукции [6]. Одним из перспективных и малоизученных способов подготовки древесины в коньячном производстве является биохимический [7], который основан на естественном процессе ферментативного катализа, протекающего в дубовой клепке в период ее сушки и непосредственно при выдержке коньячного дистиллята.

Интенсификация процесса выдержки и созревания древесины дуба для коньячного производства в желаемом направлении может быть достигнута путем колонизации древесины необходимыми микроорганизмами для активации естественных процессов выдержки клепки в парках хранения [8]. Нами было выдвинуто предположение, что применение ферментных систем, продуцируемых микроорганизмами, обладающих высокой целлюлолитической, гликозидазной и пектолитической активностью обеспечит условия, позволяющие добиться трансформации структурных компонентов древесины, минуя стадию культивирования живых микроорганизмов на древесине [9, 10, 11].

Объекты и методы исследований. Для оценки целесообразности проведения ферментативного катализа дубовой древесины для выдержки коньячных дистиллятов была исследована дубовая клепка из древесины кавказского дуба свежезаготовленная, а также выдержанная на открытой площадке в условиях естественной температуры и влажности в течение 3 и 36 месяцев (таблица 1). В процессе исследования были выделены микроорганизмы, развивающиеся на поверхности дубовой клепки, определена величина адсорбции на поверхности древесины, характеризующая ее структурные изменения в процессе выдержки, а также определено влияние ферментативного катализа древесины дуба на формирование комплекса экстрактивных компонентов выдерживаемых коньячных дистиллятов в сравнении с используемыми методами термической и химической обработки.

Таблица 1 – Характеристики дубовой клепки

№ п/п	Срок выдержки	Влажность, %
Образец № 1	36 месяцев	13
Образец № 2	3 месяца	20
Образец № 3	свежезаготовленная	35

Для определения качественного и количественного состава микроорганизмов, находящихся на поверхности образцов древесины дуба, по одному брусочку каждого образца помещали в стерильные стеклянные банки со стерильным физиологическим раствором (50 мл). Брусочки дуба омывали раствором при постоянном перемешивании в течение 30 мин. По истечении времени смывную жидкость, с соблюдением правил асептики, переливали в стерильные пластиковые пробирки. Часть жидкости впиталась в брусочки и окончательный объем получился -35 мл. Далее проводили исследования по выделению грибов и бактериальных групп микроорганизмов.

Грибы выделяли из каждого образца тремя способами: а) из смыва, полученного как описано выше; б). из соскоба влажного бруска, оставшегося после приготовления смыва; в) из соскоба сухого бруска. Соскобы проводили стерильным скальпелем с мест возможного повреждения (почернения) древесины. Высев осуществляли на две плотные питательные среды - мальт-пептонный агар, где предполагается рост всех грибов, находящихся в образце, и на селективную среду для грибов-древоразрушителей на основе агара Чапека. Смыв наносили по 100 мкл на одну чашку Петри втирали стеклянным шпателем, соскобы переносили стерильным скальпелем на агар и равномерно распределяли по поверхности. Чашки инкубировали при 26°C в течение 48-72 часов,

индивидуальные колонии грибов переносили на свежие чашки с мальт-пептонным агаром и выращивали для дальнейшего анализа.

Наибольшее число колоний грибов отмечено в образце 1, в образцах 2 и 3 колоний заметно меньше. В образцах встречаются как легко идентифицируемые фенотипически виды родов *Trichoderma*, *Penicillium* и *Aspergillus*, так и представители других родов.

В процессе исследования по выделению бактериальных групп микроорганизмов смывные жидкости сгущали центрифугированием при числе оборотов 4000 об/ мин, при 4°C в течение 15 мин. К полученным осадкам добавляли по 2 мл стерильного физ. раствора и сгущенные жидкости использовали для высева на различные плотные питательные среды, пригодные для выращивания бактериальных культур микроорганизмов.

Агаризованные питательные среды в расплавленном виде заливали в чашки Петри по 20 мл. После застывания агара, на поверхность чашек со средами помещали по 50 мкл сгущенной жидкости и равномерно распределяли по поверхности стерильным стеклянным шпателем. Подготовленные чашки Петри помещали в термостат на 30°C и выращивали в течение 48-60 часов. По истечению времени чашки визуально анализировали на качественный и количественный рост колоний микроорганизмов.

Обсуждение результатов. Анализ показал, что наибольшее число разнообразных колоний наблюдалось в образце №1, наименьшее в образце №3. Преобладающее количество бактериальных колоний представлены в основном как круглые, выпуклые с ровными краями, не прозрачные белого цвета. Микрокопирование препаратов, приготовленных из колоний, показало, что по морфологическим свойствам это два – три вида клеток, похожих на дрожжи.

В процессе исследования было выявлено закономерное снижение влажности дубовой древесины в процессе сушки при увеличении срока выдержки клепки в парке хранения. Влажность свежезаготовленной клепки составляла 35%, а при увеличении срока выдержки древесины до 36 месяцев снизилась до 13%.

Было выявлено также изменение значения адсорбционной емкости древесины (рис. 1), которая является одним из показателей изменения пористости [12].

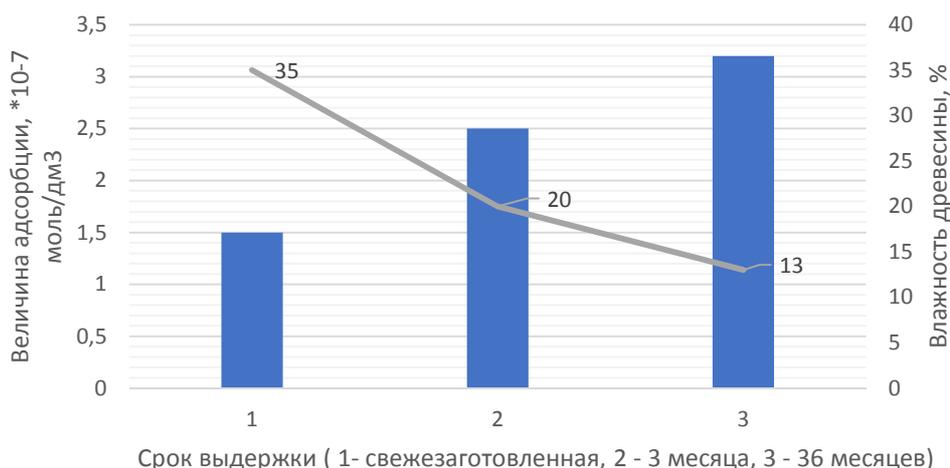


Рисунок 1 – Величина адсорбции на поверхности древесины и влажность дубовой клепки в зависимости от срока выдержки

Величина адсорбции уксусной кислоты на поверхности дубовой клепки увеличилась пропорционально сроку выдержки, что свидетельствует о деструкции некоторой части

компонентов клеточных стенок, которое приводит к увеличению объема полостей клеток, и, как следствие, к увеличению пористости. Повышение пористости и увеличение проницаемости клеточной стенки волокон древесины обеспечивает более полное извлечение лигнина, дубильных веществ и ароматических альдегидов дистиллятом в процессе выдержки.

Очевидно, что немаловажную роль в изменении структурных свойств древесины играют микроорганизмы, идентифицированные на ее поверхности, так как количество колоний плесневых грибов, которые являются агентами биодеструкции древесины, также возрастает с увеличением продолжительности выдержки древесины. Выделенные с поверхности древесины грибы-древоразрушители обладают высокой ферментативной активностью, а их развитие на дубовой клепке, сопровождающееся ферментативными процессами, может привести к анатомическим изменениям древесины дуба – увеличению пористости древесины, ее проницаемости для жидкости, трансформации лигнина, что делает древесину более пригодной для использования в коньячном производстве [13].

Для экспериментального подтверждения достоверности высказываемой гипотезы о возможности применения биохимических способов активации древесины дуба, используемой в коньячном производстве, было определено влияние ферментативного катализа древесины дуба на формирование комплекса экстрактивных компонентов выдерживаемых коньячных дистиллятов в сравнении с используемыми методами термической и химической обработки.

С целью установления степени влияния различных способов обработки на состав получаемых выдержанных дистиллятов были исследованы химический (обработка 0,3%-ми растворами соляной кислоты (HCl) и гидроокиси натрия (NaOH)), термический (нагревание дубовых кусочков при температуре 140°C в течение 45 часов) и биохимический способы предварительной обработки древесины. Биохимический способ заключался в обработке древесины суспензией ферментных препаратов с целлюлолитической активностью. Залив обрабатываемой древесины коньячным дистиллятом (65% об.) осуществляли из расчета достижения удельной поверхности 150 см²/дм³ [14].

В процессе анализа ароматические альдегиды и фенольные кислоты были идентифицированы во всех исследуемых образцах. При сравнении способов предварительной обработки дубовой древесины были выявлены следующие особенности (рис. 2).

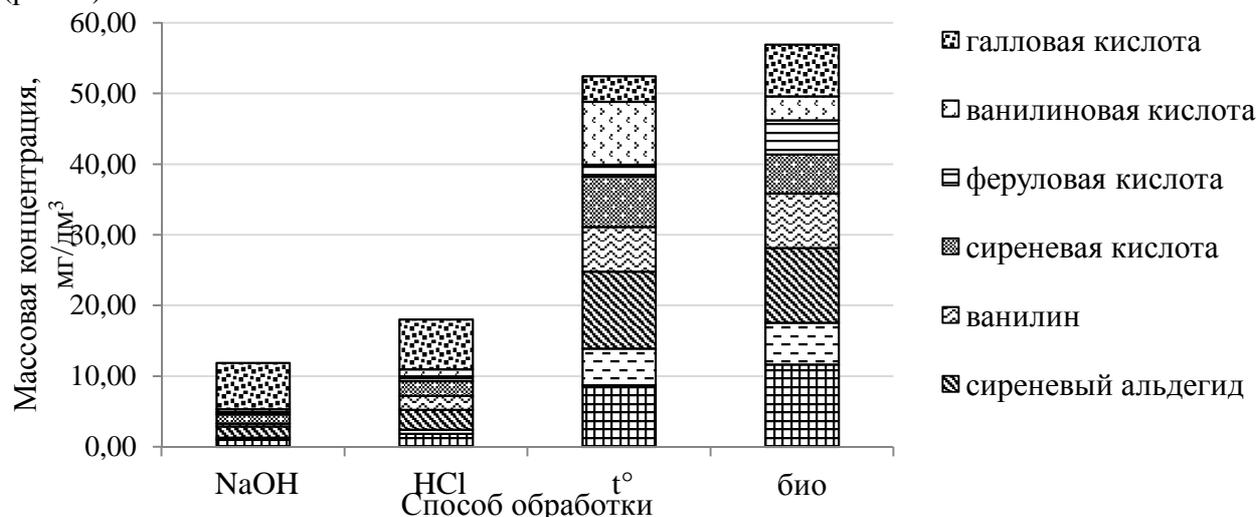


Рисунок 2 – Уровень массовой концентрации ароматических альдегидов и кислот в исследуемых дистиллятах (NaOH – щелочная обработка, HCl – кислотная обработка, t° – термообработка, био – ферментативный катализ)

Кислотная обработка дубовой клепки способствовала невысокому накоплению фенольных компонентов. В дистилляте среди всех фенольных компонентов превалировала галловая кислота в концентрации 7,1 мг/дм³. Концентрация ароматических альдегидов была более высокой, чем при щелочной обработке. Сиреневый альдегид идентифицирован в количестве 2,8 мг/дм³, ванилин – 2,0 мг/дм³, синаповый - 1,9 мг/дм³, кониферилловый - 0,6 мг/дм³. Отношение концентраций сиреневого альдегида и ванилина составило 1,4. Концентрация сиреновой кислоты (2,1 мг/дм³) превысила концентрацию ванилиновой кислоты (1,0 мг/дм³) практически в 2 раза.

Термическая обработка дубовой клепки привела к более высокому накоплению ароматических компонентов в дистиллятах по сравнению с химическими способами обработки древесины (щелочным и кислотным).

В результате ферментативного катализа древесины кавказского дуба в дистиллятах был установлен самый высокий уровень концентраций ароматических альдегидов и фенольных кислот. Ферментативный катализ древесины привел к более высокому накоплению ароматических альдегидов в сравнении с содержанием фенолкарбоновых кислот в образцах. Среди альдегидов в наибольших концентрациях были идентифицированы синаповый и сиреневый альдегиды в количестве 11,7 мг/дм³ и 10,6 мг/дм³ соответственно. Ванилин был идентифицирован в количестве 7,7 мг/дм³, содержание кониферилового альдегида составило 5,9 мг/дм³. Отношение концентраций сиреневого альдегида и ванилина составило 1,38. Ароматические кислоты были представлены в данном образце в основном галловой кислотой – 7,3 мг/дм³, содержание сиреновой кислоты составило 5,5 мг/дм³, феруловой – 4,9 мг/дм³, ванилиновой – 3,4 мг/дм³.

При сравнении четырех способов обработки древесины наиболее высокая концентрация общего экстракта была отмечена при обработке дубовой клепки кислотным способом – 5,6 г/дм³, менее интенсивно экстрактивные вещества накапливались при обработке щелочным и термическим способами – 2,9 и 3,0 г/дм³ соответственно. При обработке дубовой клепки биохимическим методом содержание экстрактивных веществ отмечено на уровне 2,1 г/дм³.

При исследовании накопления дубильных веществ в зависимости от способа предварительной обработки дубовой клепки были выявлены особенности, наглядно представленные на рисунке 3.

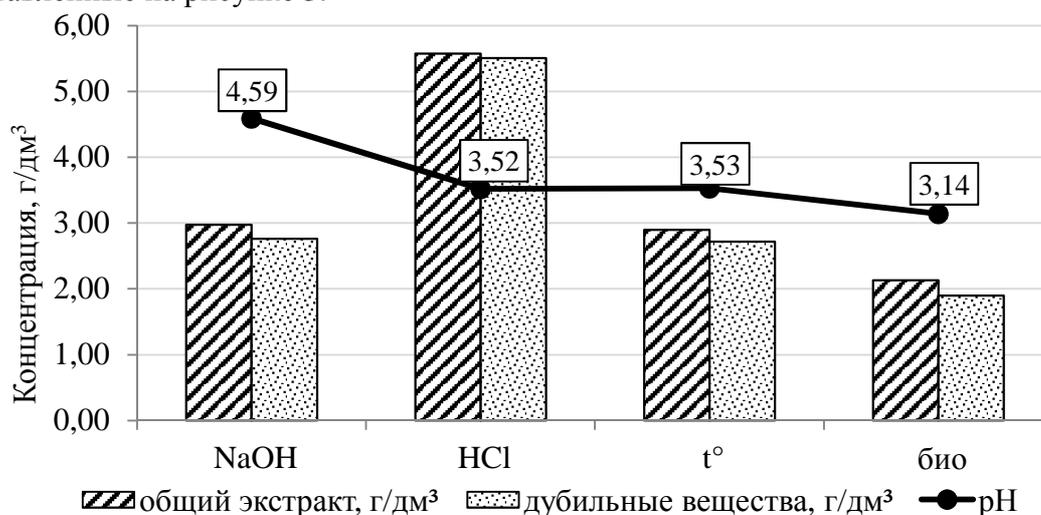


Рисунок 3 – Уровень массовой концентрации дубильных веществ, общего экстракта и значение pH в исследуемых образцах (NaOH – щелочная обработка, HCl – кислотная обработка, t° – термообработка, био – ферментативный катализ)

При обработке древесины кавказского дуба кислотным способом наблюдалось значительное увеличение концентрации дубильных веществ ($5,5 \text{ г/дм}^3$) и общего экстракта ($5,58 \text{ г/дм}^3$).

Менее высокие концентрации дубильных веществ наблюдались в экстрактах древесины, обработанной термическим и щелочным способом – $2,7$ и $2,8 \text{ г/дм}^3$ соответственно. Ферментативный катализ древесины способствовал наименьшей экстракции дубильных веществ – $1,9 \text{ г/дм}^3$.

Следует отметить, что при обработке древесины химическими методами общий экстракт на 90-99% был представлен дубильными веществами. При термической обработке массовая доля дубильных веществ в общем экстракте была не более 94%. В результате биохимической обработки кавказского дуба дубильные вещества составляли 64% общего экстракта.

При установлении особенностей изменения уровня pH дистиллятов в зависимости от способа обработки дубовой клепки перед закладкой на выдержку было отмечено, что щелочная обработка закономерно приводит к увеличению уровня pH экстрактов ($4,59$). При кислотной и термической обработке клепки значение pH экстрактов было практически одинаковым $3,52 - 3,53$. Самый низкий уровень pH среди экстрактов был отмечен в образцах с ферментативным катализом древесины – $3,14$.

Выводы. В результате проведенных исследований выделены микроорганизмы, развивающиеся на поверхности древесины в процессе ее сушки в условиях естественной температуры и влажности. Установлено, что количество микроорганизмов-древоразрушителей коррелирует со сроком выдержки дубовой клепки и структурными изменениями древесины, что свидетельствует о том, что процесс сушки древесины в естественных условиях имеет не только физико-химическую, но и биохимическую основу. Выявлено, что в результате направленного ферментативного катализа дубовой древесины с целью подготовки ее к выдержке происходит активация естественных процессов гидролиза высокомолекулярных соединений древесины, в дистиллятах накапливается высокое содержание ароматических альдегидов и фенольных кислот и умеренное количество экстрактивных веществ в сравнении с другими методами подготовки древесины.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Администрации Краснодарского края в рамках научного проекта № 19-416-233021.

Литература

1. Caldeira, I. Volatile composition of oak and chestnut woods used in brandy ageing: Modification induced by heat treatment / I. Caldeira, M.C. Climaco, R. Bruno de Sousa, A.P. Belchior // Journal of Food Engineering. – 2006. – Vol. 76. – P. 202-211.
2. Оганесянц Л.А. Влияние термической обработки древесины дуба на ее химический состав и качество коньяков / Л.А. Оганесянц, В.А. Песчанская, В.П. Осипова,

О.В. 3. Джанаева, М.С. Гаджиев, П.Я. Мишиев // - Хранение и переработка сельхозсырья, 2008. - № 9. - С. 15-19.

3. Charlie J. Duval Dry vs soaked wood: Modulating the volatile extractible fraction of oak wood by heat treatments / Charlie J. Duval, Nicolas Sok, Jérémy Laroche, Karine Gourrat, Andréi Prida, Sonia Lequin, David Chassagne, Régis D. Gougeon // Food Chemistry. - Volume 138. - Issue 1 - 1 May 2013. - Pages 270-277.

4. Резниченко, К.В. Сравнительная характеристика способов подготовки дубовой древесины для выдержки коньячных дистиллятов / К.В. Резниченко, И.В. Оселедцева // Наука Кубани. – 2013. - №1. – С. 56-62.

5. Оселедцева, И.В. Теоретические и практические аспекты контроля качества коньячных дистиллятов и коньяков / И.В. Оселедцева // Краснодар: ООО «Экоинвест». – 2016. – 295 с.

6. Гаджиев, М.С. Влияние способа предварительной обработки древесины дуба на химический состав и органолептические показатели коньячных дистиллятов / М.С. Гаджиев, П.Я. Мишиев // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2012. – Т. 328. - № 4. – С. 44-45.

7. Коровин, В.В. Дуб в лесоводстве и виноделии / В.В. Коровин, Л.А. Оганесянц // М: ДеЛи принт, 2007. – 480 с.

8. Оселедцева, И.В. Пат. 2495923 Российская Федерация. МПК С12G3/07, С12Н1/22. Способ обработки дубовой клепки, используемой при созревании коньячных и им подобных дистиллятов / Оселедцева И.В., Кирпичева Л.С.; заявитель и патентообладатель Оселедцева И.В., Кирпичева Л.С. - № 2012113915/10; заявл. 10.04.12.; опубл. 20.10.13, бюл. № 29 (Пч.) – 8 с.

9. Резниченко, К.В. Биологическая активация дубовой древесины в коньячном производстве / К.В. Резниченко, И.В. Оселедцева, Т.И. Гугучкина // Виноделие и виноградарство. - №5. – 2012. – С. 30-33.

10. Агеева, Н.М. Пат. 2433167 Российская Федерация. МПК С12G3/07, С12Н1/22. Способ обработки дубовой клепки, используемой при созревании коньячных и им подобных спиртов. /Агеева Н.М., Гугучкина Т.И., Оселедцева И.В., Кокорина К.В. //– Бюл. № 31, 10.11.2011.

11. Резниченко, К.В. Совершенствование технологии производства российских коньяков на основе использования биохимически активированной древесины дуба: автореферат диссертации на соискание ученой степен канд. техн. наук. 05.18.01. / Резниченко К.В. – Краснодар. – 2013. – 24 с.

12. Новикова, Л.А. Адсорбция уксусной кислоты на природном и активированном щелочью монтмориллоните/ Л.А. Новикова, Л.И. Бельчинская, Ф. Ресснер // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2007. - Т. 7. - Вып. 5.

13. Оганесянц Л.А. Дуб и виноделие. М.: «Пищевая промышленность», 1998. – 256 с.

14. Резниченко, К.В. Исследование влияния способа предварительной обработки на структурные свойства древесины дуба в коньячном производстве / К.В. Резниченко, М.В. Антоненко, Г.Ю. Алейникова, О.П. Антоненко, Е.В. Глоба // Плодоводство и виноградарство Юга России. - 2019. - № 60 (6). - С. 163-171.