

Э. А. МАИТАШЯН

ОСОБЕННОСТИ ПРЕВРАЩЕНИЯ АЗОТСОДЕРЖАЩИХ КОМПОНЕНТОВ СУСЛА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ ПЕРВОНАЧАЛЬНОГО УРОВНЯ

При спиртовом брожении виноградного сусла с начальных же фаз процесса происходит быстрое усвоение низкомолекулярных соединений азота с одновременным размножением дрожжей. Динамика азотсодержащих соединений сусла может носить разный характер. Найдена прямая коррелятивность между концентрацией суммы азотсодержащих соединений сусла и скоростью их убывания в процессе брожения [3, 16, 17].

Степень снижения уровня азотистых веществ связывается как с исходным их содержанием в сусле, так и с биологическими особенностями сорта винограда, с применяемой расой дрожжей [2, 3, 16—18, 20]. Чем выше содержание азотистых веществ в исходном сусле, тем больше их вынос из сусла, до некоторой степени больше также количество остаточных после брожения азотсодержащих веществ в молодом вине.

Валуйко и Нилов [2] связывают интенсивность снижения содержания азотистых веществ с температурой и степенью аэрации. При различных температурных режимах различны сроки наступления автолиза, следовательно, неодинакова и степень понижения азота. Авторы указывают, что при температуре 25° автолиз начинается уже в ходе спиртового брожения и не прекращается после окончания брожения при осветлении вина. В таких условиях наряду с ассимиляцией азота из сусла его выделение в броющую среду наступает рано.

Определенное значение для нормальной жизнедеятельности дрожжей приобретают и такие факторы, как pH среды, пылевидный или хлопьевидный тип расы и многие другие факторы, данные по которым весьма противоречивы и подлежат дальнейшему изучению.

Как уже отмечалось, в процессе жизнедеятельности дрожжей происходит не только ассимиляция азота из среды, но и возврат азота на определенном этапе брожения [4, 6, 8, 13, 16, 17]. Возврат азота происходит из здоровых бродящих дрожжей [16], но не носит непрерывного характера. Лишь к определенному периоду наступает равновесие, после которого дальнейший возврат азота перестает быть заметным [17]. Если молодое вино (еще не снятое с осадка) содержит требуемое количество азота, то последующими фильтрациями содержание азота можно сохранить на нужном уровне.

По разным данным аммиачный азот составляет 40—60% от общего

азота. Это — одна из легкоусвояемых форм азота, поэтому в начальный период интенсивно расходуется дрожжами. В процессе брожения содержание аминного азота снижается на 35—40%.

Сисакян и Безингер [9], изучая изменение аминокислотного состава вина при его первичной технологии, нашли, что наиболее интенсивное усвоение аминокислот, а следовательно, и понижение содержания аминного азота, происходит в первые 3—5 дней брожения. К этому периоду количество аминокислот достигает своего минимального значения. Установив избирательную ассимиляцию винными дрожжами аминокислот из виноградного сусла во время брожения, авторы нашли, что в первые дни дрожжи быстро ассимилируют из сусла все аминокислоты за исключением пролина.

Нами отмечалось, что при сбраживании виноградного сусла происходит снижение содержания аминного азота, в частности аминокислот, с расходом около 60% от общего содержания [10]. При этом в противоположность другим аминокислотам количество пролина значительно возрастает [11].

Аммиачная и амидная формы азота содержатся в небольшом количестве в сусле и уже в начальные периоды брожения полностью расходуются.

В настоящей работе изучена степень влияния содержания азотистых веществ исходного сусла на основные показатели брожения (спирт, углекислый газ и др.), на интенсивность усвоения азота дрожжами и возврата его в среду.

Методика. Объектом для проведения опытов по брожению служило виноградное сусло сорта Воскеат урожая 1961 г., полученного на Ереванской базе АРМИНИ ВВИП и хранившееся в пастеризованном виде. Сусло содержало: сахар—23—24 г/100 мл, общий азот—500—860 мг/дл, титруемая кислотность—5,9 г/л, рН среды—3,5.

Брожение проводилось в 0,75 л бутылках, содержащих 350 мл сусла, культурой *Saccharomyces vini* расой Кахури-7, полученной от Ереванского завода шампанских вин. Постановка опытов подробно описана в другой работе [10].

Общий азот определялся по микрокельдалю, аминный азот — фермольным титрованием в модификации Гаврилова, аммиачный азот — отгонкой аммиака в присутствии слабой щелочи, амидный азот — предварительным гидролизом 20%-ой серной кислотой и последующей отгонкой аммиака [1]. Сахар — микрометодом Хагедорн-Пенсена, спирт — пикнометрически; углекислоты — взвешиванием опытных бутылок. Аминокислоты определены после распределения с помощью бумажной хроматографии и проявления нингидрином по указаниям Лисички и Зоран [15], за исключением пролина, определенного по Храбетовой и Тупи [14].

Помимо вышеупомянутых величин результаты были оценены проведением баланса азота между суслом и дрожжами, а также соотноше-

пнями	спирт		CO ₂		биомасса	
	израсходованный сахар		израсходованный сахар		израсходованный сахар	

Общие показатели брожения. Данные по расщеплению сахара, накоплению спирта и выделению углекислого газа приведены в табл. 1.

Таблица 1

Показатели расщепления сахара, образования спирта и выделения углекислого газа при брожении сусле

Продолжительность брожения в сутках	Сахар в г/100 мл	Спирт в % об.	CO ₂ в г фактически выделенное газа	Биомасса в г абсолютного вещества дрожжей	Спирт	CO ₂	Биомасса
					израсх. сахар в %	израсх. сахар в %	израсх. сахар в %
Опыт I (23.1X-62)							
Исходное сусло	23,6	—	—	—	—	—	—
4	18,6	2,6	6,3	0,635	50	35	3,5
5	14,2	3,8	12,7	0,896	40	38	2,7
6	7,4	5,0	22,3	1,142	30	39	2,0
7	4,5	6,6	25,7	1,271	34	38	1,9
8	1,3	8,0	32,4	1,260	35	41	1,6
15	следы	9,4	37,1	1,190	40	44	1,4
Опыт II (25.XI-62)							
Исходное сусло	23,6	—	—	—	—	—	—
2	18,9	—	4,7	0,686	—	28	4,2
3	15,6	4,2	14,2	1,042	52	50	3,3
5	8,8	6,0	21,7	0,786	40	41	1,5
6	8,4	6,3	23,3	0,765	41	43	1,4
10	5,8	8,6	33,2	0,901	45	53	1,4
18	0,9	9,1	37,3	0,877	40	46	3,3
Опыт III (23.XI-63)							
Исходное сусло	24,0	—	—	—	—	—	—
2	20,4	3,0	4,9	0,908	53	38	7,2
3	17,5	5,1	10,0	0,900	80	43	4,3
4	13,0	6,2	17,2	1,000	56	41	2,6
5	7,0	6,4	21,4	1,115	45	43	2,2
10	5,2	8,2	32,1	1,132	43	48	1,7
17	4,5	9,5	39,1	1,117	50	57	1,6

За исключением III опыта, в котором сусло недобродило 4,5 г/100 мл сахара, в остальных случаях сахар был израсходован полностью. В начальных этапах брожения количество образуемого спирта невелико; оно не соответствует уравнению Гей-Люссака.

Имеются указания [12], свидетельствующие о меньшей величине выхода спирта на первых этапах брожения. Подобное явление объясняется использованием сахара на рост и размножение дрожжей [5], накоплением промежуточных продуктов, которые только к концу брожения полностью превращаются в спирт и углекислоту [7]. Однако следует учесть, что расход сахара на рост и размножение дрожжей процесс необратимый и поэтому высокий выход спирта к концу брожения с этой точки зрения все же остается необъяснимым.

Во всех опытах выход спирта по ходу брожения ниже теоретического (0,60) и в среднем составляет 0,44. Так как в условиях наших опытов в начальных фазах брожение протекало в присутствии некоторого количества атмосферного и растворенного в сусле кислорода, ведущего к интенсификации образования дрожжевой массы, то можно считать, что на выход спирта влияет относительность анаэробных условий, а также испарение некоторого количества последнего с током выделяющегося углекислого газа. Данные табл. 1 показывают также, что выход CO_2 составляет в среднем 0,48 и близок к теоретическому (0,48).

Динамика азотсодержащих фракций (табл. 2). Начиная с момента инкубирования и до 4–5-ых суток во всех трех опытах происходит ин-

Таблица 2
Изменение азотсодержащих фракций при спиртном брожении сусла

Продолжительность брожения и суток	Общий в мг/л	Аминый в мг/л	Аминовый в мг/л	Амидный в мг/л	Аминокислотный в мг/100 мл	Общий азот дрожжей в мг % абсолютно сухого вещества	Общий азот спиртового экстракта дрожжей в мг % абсолютно сухого вещества
Опыт I (23.IX—62)							
Исходное сусло	525	366	84,4	14,0	—	—	—
4	330	270	3,4	5,0	—	8,4	—
5	310	214	2,8	8,4	—	10,5	—
6	260	201	3,9	0,3	—	8,82	—
7	210	170	1,1	4,4	—	6,70	—
8	280	152	1,2	1,6	—	6,5	—
15	260	157	нет	нет	—	6,4	—
Опыт II (25.X—62)							
Исходное сусло	682,5	355	114,0	20,0	32,4	—	—
2	375	210	22,4	2,2	22,5	—	—
3	330	219	3,5	—	21,1	—	—
5	170	197	3,5	1,1	18,9	—	—
6	297	186	4,6	1,2	18,6	—	—
10	192	175	4,6	нет	16,9	—	—
18	375	175	4,0	нет	19,7	—	—
Опыт III (23.XI—63)							
Исходное сусло	860	378	100,0	30,0	—	—	—
2	577	186	20,0	25,0	—	9,7	1,27
3	247	163	20,0	21,0	—	8,8	1,50
4	227	186	следы	следы	—	8,4	1,05
5	315	—	следы	следы	—	9,1	1,57
10	297	140	нет	нет	—	6,6	0,52
17	245	192	нет	нет	—	7,6	1,83

тенсивное понижение общего азота, после чего наступает фаза относительного постоянства, продолжающаяся до 8–10-ых суток и сменяющаяся затем периодом некоторого повышения общего азота в брозящем сусле. Быстрое уменьшение азота в первые 5 суток брожения связано с бурной жизнедеятельностью дрожжей, в результате которой уже при расходе 20% сахаров азот уменьшается на 37% (опыт I). Этому благоприятствуют и такие факторы, как низкая спиртуозность среды и др.

На более поздних этапах и до конца брожения увеличение веса син-

тезированной биомассы (табл. I) не приводит к ускорению потребления азота, т. е. в среде в заметном количестве накапливается спирт и усиливаются процессы автолиза, приводящие к возврату азота в среду.

Однако между отдельными опытами отмечаются и некоторые особенности. От уровня исходного азота зависит скорость расхода азота в среде. Чем больше исходного азота в сусле, тем стремительнее падение его содержания в среде. Во всех опытах отмечается тенденция к приравниванию уровня остаточного после брожения азота. Динамика общего азота является результатом участия в изменении общего азота отдельных азотистых фракций.

Аминный азот исходного сусла колеблется в пределах 355—378 мг/л. Во время брожения расходуется около 50%. Снижение аминного азота совпадает по характеру с изменением общего азота: после 7-ых (I опыт) и 10-ых (III опыт) суток брожения начинается увеличение аминного азота в сусле до 157—192 мг/л. В опыте II нарастание аминокислотного азота среды происходит с 169 до 197 мг/л. Азот аминокислот падает значительно меньше по сравнению с аминным, в силу чего получается некоторый разрыв между этими значениями, что объясняется нами расхождением методов определения.

Аммиачный азот сусла доходит до 100 мг/л. Во время брожения, как наиболее легкоусвояемый, он расходуется полностью в очень короткий срок. Из приведенных опытов только в одном в конце брожения остались следы аммиака.

Известно, что аммиачный азот в урожайные годы содержится в незначительных количествах и, наоборот, в неурожайные его содержание очень высокое. Амидного азота содержится в исходном сусле до 30 мг/л. Опыты показали, что эта форма потребляется дрожжами в короткий срок и полностью расходуется в период быстрого нарастания биомассы, т. е. до 3—4-ых суток после брожения. Этот факт не совпадает с некоторыми данными [16], указывающими, что в процессе брожения амидный азот остается неизменным.

Ввиду того, что из остальных рассмотренных фракций лишь аминный азот имеет тенденцию к повышению в последней фазе брожения, можно заключить, что повышение общего азота бродящего сусла в этот период происходит за счет аминного азота.

Азот накапливается в дрожжевой массе в период бурного брожения (до 10,5% от сухого веса дрожжей). С 5-ых суток брожения азот в дрожжах, хотя и остается на высоком уровне, начинает постепенно, но скачкообразно понижаться: к моменту полного расщепления сахара в дрожжах еще содержится до 6—7% общего азота.

Вместе с этим отмечается некоторое понижение веса дрожжей, что, вероятно, связано с усилением процесса автолиза клеток. На 15—17-ые сутки брожения, когда имеет место полное расщепление сахара, выделение азота дрожжами все еще продолжается. Равновесие азота в систе-

ме сусло—дрожжи происходит еще позже, на стадии образования молодого вина [16, 17].

На основании имеющихся литературных и наших данных предполагается, что возврат азота в среду осуществляется двумя путями: во-первых, у нормальных покоящихся клеток путем выделения отдельных аминокислот через мембрану, во-вторых, после наступления автолизиса путем высвобождения аминокислот клеточных структур.

Кафедра биохимии
Ереванского Государственного университета

Поступило 20.V 1966 г.

Է. Ա. ՄԱՆՏԱՇՅԱՆ

ՔԱՂՅՈՒԻ ԱԶՈՏԱՅԻՆ ԲԱՂԱԿՐԻՉՆԵՐԻ ՓՈՆՈՐԿՄԱՆ
ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԿԱԳՎԱՅ ԿՐԱՆՑ ՍԿՂԲՆԱԿԱՆ
ՄԱԿԱՐԳԱԿ ԷՆՏ

Ա. մ. փ. ո. փ. ո. մ.

Ներկա աշխատության մեջ ուսումնասիրված բաղդուի ազոտային նյութերի սկզբնական մակարդակի (կոնցենտրացիայի) ազդեցությունը շաքարասնկային օրգանիզմների կողմից ազոտի յուրացման և բջիջներից միջազայրում նրա անջատման ինտենսիվության վրա:

Փորձերի արդյունքները զննումովիչ են խմորման շիմնական ցուցանիշներով (կուտակված սպիրտ, արտաթորված ածխաթթու զտալ) և ազոտական ֆրակցիաների փոփոխմամբ:

Արանս օրյեկա ձառայել է Ռսկննաա սորտի 1961 թ. բերրից ստացված խաղողի բաղդուն:

Խմորումը կատարվել է *Saccharomyces vini*-ի Կախուրի սասաչով:

Մեր նետադոտումությունները շիմք են սալիս նանգելու նետնյալ շիմնական եզրակացությունների՝

1. Խաղողի բաղդուն խմորման պրոցեսի ստաշին 5 օլոլա ընթացքում ինտենսիվորեն իջնում է ընդհանուր ազոտի պարասկանությունը, որից նետս նկատվում է շաքարասնկերի կողմից ազոտի ձախտման ընթացքի դանդաղեցում մինչև սրաշակի մակարդակ: Այս երևույթի բնորոշ է սոլոր փորձերին:

2. Սկսած խմորման պրոցեսի սկզբնական փուլերից՝ ամինային ազոտը ինտենսիվորեն սպառվում է շաքարասնկերի կողմից և բաղդուում նրա կոնցենտրացիան իջնում է սկզբնական մակարդակի 50—60% -ի շախով, իսկ մինչև խմորման ավարտումը ընդհանուր ազոտի մակարդակը բարձրանում է ի նաշիվ ամինային ազոտի:

3. Ազոտի ամենիակալչին և ամիդային ձևերը նամարյալ լրրվ յուրացվում են խմորման սկզբնական օրերում և միջազայրում նրանցից մնում են միայն նետրեր:

4. Մինչև խմորման 7—10-րդ օրը շաքարասնկերի քան նվելանում է, իսկ նրանց ազոտը աճում է մինչև խմորման 5-րդ օրը: Ափտուլիդի ուժեղացումը նանգեցնում է միջազայրում շաքարասնկերի կողմից ազոտի անջատմանը և սրաշակի շախով նրանց բաշի իջեցմանը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Белозерский А. И. и Проскуряков Н. И. Биохимические методы анализа растений. М., 1951.
2. Валуйко Г. Г., Нилов В. И. Тр. ВНИИВиВ Магарач, т. VII, 1959.
3. Зинченко В. И. Биохимия виноделия. Сб. 7, 1963.
4. Курсанов А. П., Псаева. Биохимия, 9, 5, 1944.
5. Лебедев С. В. Изв. Томского технологического института, т. 37, 1915.
6. Мазилкин Н. А. Канд. дис. ЛГУ, 1939.
7. Одинцова Е. П. Тр. ВНИИВиВ Магарач, т. VI, вып. 2, 1958.
8. Опарин А. И., Безингер Э. П. Биохимия, 14, 3, 291, 1949.
9. Сисакян Н. М., Безингер Э. Н. Биохимия, т. 18, вып. 4, 1953.
10. Тер-Карапетян М. А., Манташян Э. А. Биологический журнал Армении, т. XIX, 9, 1966.
11. Тер-Карапетян М. А., Манташян Э. А. ДАН АрмССР, т. XII, 3, 1965.
12. Тюрнда Л. В. Тр. ВНИИВиВ Магарач, т. IX, 1960.
13. Sinstor. Ford Research. т. 18, 139, 2, 1953.
14. Hrabetova E., Tury J. J. Chromat., т. 3, 199, 1960.
15. Lissulzky S., Laurent G. Bull. Soc. Chim. Biol., т. 37, 1177, 1955.
16. Heunig. Zeitschr. Lebensmitt. Untersuch. Forsch., т. 87, 40, 1944.
17. Heunig and Ouske. Vorratspflege u. Lebensmitt., 5, 408, 1942.
18. Koch Bretthomer. Zeitschr. Lebensmitt. Untersuch. Forsch., 106, 5, 1957.
19. Thorue R. J. Inst. Brewing, 4, 1949.
20. Lafon-LaTourcade S. et G. Gnimberteau. Vitis, 3, 1962.