

57
А-32

АКАДЕМИЯ НАУК КАЗАХСКОЙ ССР

Объединенный ученый Совет институтов почвоведения, ботаники,
микробиологии и вирусологии

На правах рукописи

П. Б. Энкер

**ФЕРМЕНТАТИВНОЕ РАЗРУШЕНИЕ
ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ
ЯГОД С УЧАСТИЕМ ВИННЫХ ДРОЖЖЕЙ
(093—биологическая химия)**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Алма-Ата — 1968

АКАДЕМИЯ НАУК КАЗАХСКОЙ ССР

Объединенный ученый Совет институтов почвоведения, ботаники,
микробиологии и вирусологии

На правах рукописи

П. Б. Энкер

ФЕРМЕНТАТИВНОЕ РАЗРУШЕНИЕ
ПЕКТИНОВЫХ ВЕЩЕСТВ
ЯГОД С УЧАСТИЕМ ВИННЫХ ДРОЖЖЕЙ
(093—биологическая химия)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена в лаборатории микробных ферментов Института микробиологии и вирусологии Академии наук Казахской ССР.

Научный руководитель кандидат биологических наук
МАРТАКОВ А. А.

Официальные оппоненты:

Академик АН КазССР, профессор **Дарканбаев Т. Б.**
Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Никитина Е. Т.

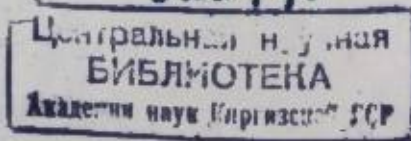
Ведущее предприятие: лаборатория растительного сырья Института химии АН Казахской ССР.

Автореферат разослан 17 сентября 1968 года.

Защита диссертации состоится ноябрь октябрь 1968 года на заседании Объединенного Ученого Совета Институтов почвоведения, ботаники, микробиологии и вирусологии АН Казахской ССР, г. Алма-Ата, ул. Шевченко, 28, малый конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института ботаники АН КазССР, г. Алма-Ата, ул. Кирова, 103.

Ученый секретарь Объединенного Ученого Совета,
канд. медицинских наук **Н. АХМАТУЛЛИНА.**



При переработке плодов и ягод, содержащих до 90% сока, выход его в среднем составляет 60%. Около 30% сока теряется с отходами производства. Более полное извлечение сока и улучшение качества виноградных и плодово-ягодных вин можно осуществить применением грибных пектолитических ферментных препаратов.

Как известно, грибной ферментный препарат состоит из комплекса пектолитических ферментов, основными представителями которых являются пектинэстераза и полигалактуроназа. Пектинэстераза отщепляет метильные группы пектина с образованием метанола, а полигалактуроназа расщепляет его $\alpha-1,4$ — глюкозидные связи. Отсюда ясно, что основной эффект при ферментативном гидролизе пектинов происходит в результате действия полигалактуроназы, которая дезагрегирует молекулы пектина, что приводит к увеличению выхода сока и снижению его вязкости. Таким образом, в практике соковой и винодельческой промышленности полигалактуроназа имеет решающее значение. С целью наиболее полного извлечения сока из плодов и ягод и интенсификации производственных процессов важно было изучить проявление полигалактуроназного действия плодами, дрожжами и пектолитическими ферментными препаратами.

В связи с этой целью работы ставилось:

1. Оценить действие полигалактуроназы ягод, дрожжей и грибного ферментного препарата на степень и скорость гидролиза природных пектинов.
2. Изучить глубину распада пектиновых веществ под действием винных дрожжей в процессе брожения суслу на мезге и определить пути интенсификации процесса их разрушения на биологической основе.

1. ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ И РАСЧЕТ ЕДИНИЦ АКТИВНОСТИ ПОЛИГАЛАКТУРОНАЗЫ

Ступенчатый распад полигалактуроновой кислоты — основного звена пектиновой молекулы — происходит с образо-

ванием тетра-, три-, ди- и моногалактуроновой кислоты в результате действия полигалактуроназы (ПГ). Этот процесс связан с потерей коллоидных свойств пектинового раствора, а также потерей его вязкости. Снижение вязкости является показателем ферментативной активности, показывает степень деполимеризации пектиновых веществ и определяет технологический эффект ферментативной обработки сырья. Исходя из этих соображений при оценке ПГ действия мы остановились на вискозиметрическом методе согласно прописи А. А. Мартакова, О. П. Диановой, В. С. Краснощековой (1963).

При пользовании данным методом нами предложен способ расчета единиц активности ПГ в абсолютных величинах по количеству микроэквивалентов разрушенных «эффективных» связей пектиновой молекулы, т. е. тех, которые определяют коллоидные свойства и повышенную вязкость растворов пектина.

Для оценки ПГ действия вискозиметрическим методом на пектины натуральных соков нами была унифицирована формула расчета относительного снижения вязкости. С этой целью функцию растворителя в формуле стал «выполнять» непосредственно натуральный сок после полного ферментативного гидролиза в нем пектиновых веществ.

В результате многочисленных определений вязкости натуральных соков малины, черной смородины и винограда после окончания ферментативного гидролиза в них пектиновых веществ нами была составлена шкала минимальных пределов вязкости (табл. 1), в которой ягоды расположены по группам в зависимости от предельных значений вязкости их соков.

Таблица 1
Шкала вязкости соков после окончания ферментативного гидролиза пектинов

Группа вязкости	Пределы вязкости, $10^{-6} \text{ м}^2/\text{сек}$
Первая (малина)	1,36—1,69
Вторая (черная смородина)	1,39—1,84
Третья (виноград)	1,55—1,84

Оказалось, что перечисленные виды ягод характеризуются значительным различием первоначальной вязкости сока. После же завершения ферментативного гидролиза пектиновых веществ эти различия обуславливаются исключительно содержанием сухих веществ. Указанные в шкале пределы вязкости могут служить ориентировочными для суждения о степени разрушенности пектиновых веществ. В практике теххимии-

ческого контроля еще не было предложено достаточно быстрых и вместе с тем надежных способов контроля за ходом ферментативного гидролиза пектинов натуральных соков. Правильное и своевременное заключение о степени законченности этого процесса является очень важным для определения момента фильтрации сока или прессования ферментируемого сырья и более полного извлечения содержащегося в нем сока.

Предлагаемый способ определения степени законченности ферментативного гидролиза пектинов сводится к простому определению величины кинематической вязкости исходного (до ферментации) сока и его вязкости в какой-либо момент ферментации с последующим расчетом процента гидролиза по формуле относительного снижения вязкости. В этой формуле вязкость растворителя (V_p) находится из графика, составленного на основании эмпирической зависимости между удельным весом сусла и величинами его кинематической вязкости.

II. ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ ПОЛИГАЛАКТУРОНАЗЫ НА ПЕКТИНЫ ЯГОД В СВЯЗИ С ИЗВЛЕЧЕНИЕМ ИЗ НИХ СОКА

В этой главе представлены экспериментальные данные, характеризующие действие ПГ ягод, ПГ, продуцируемой винными дрожжами в процессе сбраживания соков и ПГ пектолитического ферментного препарата (ПФП).

Опыты по ферментации винограда, черной смородины и малины ставились в следующих вариантах: мезга с ПФП или без него нагревалась до 50°C , затем прессовалась в нагретом состоянии; мезга или сок выдерживались без брожения с препаратом или без него в течение 4—96-ти часов; мезга или сок сбраживались в течение 12—96-ти часов. Контролем являлся сок, полученный немедленным прессованием мезги.

Действие ПГ из различных источников оценивалось по данным вязкости сока и биохимическим изменениям пектиновых веществ. Суждение о биохимических изменениях, происходящих с пектиновыми веществами сырья в процессе его ферментации, составлялось на основании показателей вязкости соков и по продуктам ферментативного расщепления пектиновых веществ, которые разделялись хроматографически по методике А. В. Мельник, В. В. Арасимович (1961).

Эффективность действия пектолитических ферментов на сокоотдачу оценивалась путем пробных прессований мезги, ферментированной различными способами.

Прессование малых объемов мезги до 10 кг осуществляли на лабораторном корзиночном винтовом прессе при одном и том же режиме давления. Первое прессование вели 30, второе, после перемешивания, — 20 минут. Мезгу отпрессовывали на

гидравлических прессах, снабженных для контроля давления манометрами. Давление к моменту завершения прессования доводили до 4 кг/см².

Выход сока первого и второго давления, отходы выжимки определяли взвешиванием и на этой основе составляли весовой их баланс, в котором учитывали также количество специально внесенной в мезгу дрожжевой закваски. Для удобства сопоставления результатов опытов выход сока пересчитан в литрах на 100 кг мезги. В таблицах приведены лишь данные общего выхода сока.

Основные опыты были проведены на базе Пржевальского плодосовхозкомбината (черная смородина и малина) и в совхозе «Алма-Атинский» (виноград), в сезон 1963—1965 гг.

1. Оценка действия полигалактуроназы ягод

При анализировании данных опытов по изучению ПГ действия ягод было обнаружено, что исходное сырье даже одного вида ягод, например, малина, различается между собой по выходу сока и его вязкости. В процессе созревания ягод малины наблюдается тенденция к уменьшению вязкости и увеличению выхода сока. Аналогичная тенденция имела место и в опытах с черной смородиной.

Дальнейшее изучение ПГ активности сырья проводилось с малиной и черной смородиной в зависимости от продолжительности выдержки мезги при обычной температуре и с нагреванием последней. В результате опытов с малиной (табл. 2) было подтверждено уже известное в литературе мнение, что ягоды малины содержат фермент ПГ.

Таблица 2

Влияние продолжительности ферментации мезги малины на выход и вязкость ее сока

Дата сбора	Показатели	Выдержка мезги, ч			
		0	24	36	48
19/VII-63 г.	Выход сока, л/100 кг	68,0	68,5	—	68,5
	Вязкость сока, 10 ⁻⁶ м ² /сек	10,00	7,06	—	7,06
31/VII-64 г.	Выход сока, л/100 кг	79,2	—	83,9	83,9
	Вязкость сока, 10 ⁻⁶ м ² /сек	4,28	—	3,03	3,03

Вязкость сока малины в процессе выдержки уменьшается, а выход сока увеличивается. При этом вязкость сока малины под действием собственной ПГ уже через 24—36 часов достигает значения 3,03—7,06·10⁻⁶ м²/сек и с дальнейшей выдержкой не снижается. Соответственно в обоих случаях увеличивался выход сока, причем при действии собственной ПГ выход

сока из ягод малины сбора 31/VII-64 г. достиг максимального значения в 83,9 л/100 кг, т. е. по сравнению с контролем увеличился на 4,7 л. В опыте с малиной сбора 19/VII-63 г. выход сока в результате действия естественно содержащихся ферментов повысился на 2,5 л. Выдержка мезги малины более 24—36 часов до 48 обычно не приводила к увеличению выхода сока и снижению его вязкости.

С целью усиления активности собственной ПГ малины были поставлены опыты с предварительным перед прессованием нагреванием мезги. Оказалось, что даже кратковременное нагревание мезги до 50°C (табл. 3) положительно сказалось на выходе сока, хотя его вязкость снизилась незначительно.

Таблица 3

Влияние нагревания мезги малины до 50°C на выход и вязкость сока

Варианты	Показатели	1963 г.		1964 г.	
		19/VII	24/VII	31/VII	5/VIII
Контроль—немедленное прессование мезги	Вязкость сока, 10 ⁻⁶ м ² /сек.	10,00	—	4,28	5,05
	Выход сока, л/100 кг.	66,0	—	79,2	81,6
Нагревание мезги до 50°C без ферментного препарата	Вязкость сока, 10 ⁻⁶ м ² /сек.	12,42	9,63	—	3,85
	Выход сока, л/100 кг.	77,8	79,3	—	81,9
Дополнительный выход сока и снижение его вязкости по сравнению с контролем	Вязкость сока, 10 ⁻⁶ м ² /сек.	-2,42	—	—	1,20
	Выход сока, л/100 кг.	11,8	—	—	0,3

В опыте с малиной сбора 19/VII-63 г. вязкость по сравнению с контролем даже возросла на 2,42·10⁻⁶ м²/сек. Частично повышение вязкости сока в опыте с ягодами малины сбора 19/VII-63 г. можно объяснить действием «протопектиназы».

Аналогичные опыты были поставлены по изучению ПГ действия черной смородины. Нашими опытами было подтверждено наличие в черной смородине собственной ПГ, действие которой приводит к снижению вязкости сока и увеличению его выхода.

2. Оценка действия полигалактуроназы ферментного препарата

Исследования по ферментации мезги черной смородины с различными дозами ферментного препарата позволили установить, что для более полного извлечения сока и быстрого снижения его вязкости необходимы повышенные дозы препарата, а именно 0,15%.

При переработке мезги малины вполне достаточной является доза ферментного препарата равная 0,05%. Внесение такой дозы ферментного препарата в мезгу малины приводит уже в течение 4—6 часовой выдержки к полному снижению вязкости получаемого сока, а значит к полному разрушению пектиновых веществ.

При переработке винограда разных сортов также вполне достаточной является доза ферментного препарата в 0,05%. Повышение дозы препарата не приводит к более эффективному снижению вязкости сока и увеличению его выхода.

3. Полигалактуроназное действие дрожжей

На изучение ПГ действия дрожжей было обращено особое внимание. Интенсификация процесса гидролиза пектинов ягод может быть достигнута, как вытекает из предыдущего раздела, применением грибных ферментных препаратов или ферментацией мезги, основанной на использовании и активировании природных ферментов сырья. Ферментация мезги с использованием ПГ действия дрожжей, как показали наши опыты, также является эффективным средством ускорения процесса гидролиза пектинов плодов и ягод и важным технологическим способом повышения качества готовой продукции. В результате деполимеризующего действия на пектины дрожжей, выход сока увеличивается на 7,8—13,7 дал. из 1 тонны (табл. 4).

Таблица 4

Влияние способа ферментации мезги черной смородины на выход и вязкость сока

	Продолжительность ферментации, ч		
	72, I опыт	72, II опыт	96, III опыт
Брожение сока на мезге:			
выход сока, л/100 кг.	51,8	50,9	60,3
вязкость сока, 10^{-6} м ² /сек.	1,91	1,96	1,76
Выдержка мезги без брожения:			
выход сока, л/100 кг.	44,0	39,2	46,6
Вязкость сока, 10^{-6} м ² /сек.	2,72	12,41	2,20
Дополнительный выход сока в результате подбраживания	7,8	11,7	13,7
Величина снижения вязкости сока	0,81	10,45	0,44

Из цифр дополнительного выхода и величины снижения вязкости сока становится вполне ясной та положительная

роль, которая в процессах ферментативного гидролиза пектиновых веществ принадлежит функционирующим дрожжевым клеткам. В двух опытах в результате ПГ действия дрожжей кинематическая вязкость сока черной смородины снизилась на $0,44-0,81 \cdot 10^{-6}$ м²/сек, а в одном очень сильно — на $10,45 \cdot 10^{-6}$ м²/сек. Следует отметить, что деполимеризация пектинов ягод происходит и при выдержке мезги без брожения, но с участием дрожжей процесс этот ускоряется и в большей мере затрагивает структурные звенья клеток ягоды.

Положительное действие на сокоотдачу способа брожения сока на мезге было отмечено нами для ранних сборов ягод черной смородины и в опытах с применением грибного ферментного препарата. Так, совместное действие ПГ ферментного препарата и дрожжей позволило для ранних сборов ягод достичь повышенного выхода сока в 57,6—67,2 л/100 кг (в среднем 64,3 л при норме 60,0 л).

Дрожжи уже с первых минут своего действия «атакуют» связи в пектиновых веществах ягод, обеспечивая, тем самым, ускоренное расщепление пектинов черной смородины. На этой первой стадии ферментации совершается важнейший биохимический акт разрушения коллоидной системы мезги, в результате которого достигается более полное отделение сока. Основываясь на этом эффекте, нами был разработан и в 1964 г. внедрен на Пржевальском плодоягодсовхозкомбинате биодиффузионный способ извлечения сока из черной смородины.

В результате высокого ПГ-ного эффекта дрожжей оказалось возможным процесс ферментации мезги и извлечения сока диффузионным способом осуществить в одной и той же емкости — ферментаторе-диффузоре.

Извлечение сока, осуществляемое вслед за ферментацией мезги, выполняется по схеме, изображенной на рис. 1.

Ферментация мезги при использовании ягод на вино осуществляется по способу брожения сока на мезге. Готовность мезги к диффузионному извлечению сока наступает обычно к моменту окончания спиртового брожения. К этому времени в результате пектолиза и сбраживания отделяется около 25% самотека, который сливается в приемники (5) для готового сока. На оставшуюся в ферментаторе мезгу до верхнего ее уровня заливается вода и экстрагирование продолжается около 1—2 часов. Полученный диффузионный экстракт используется для вторичного залива еще не экстрагированной мезги, после чего он вполне пригоден для использования в производстве. В первый ферментатор-диффузор заливается новая порция воды.

Дальнейшее извлечение экстрактивных веществ ягод водой выполняется, как это принято в практике, по принципу

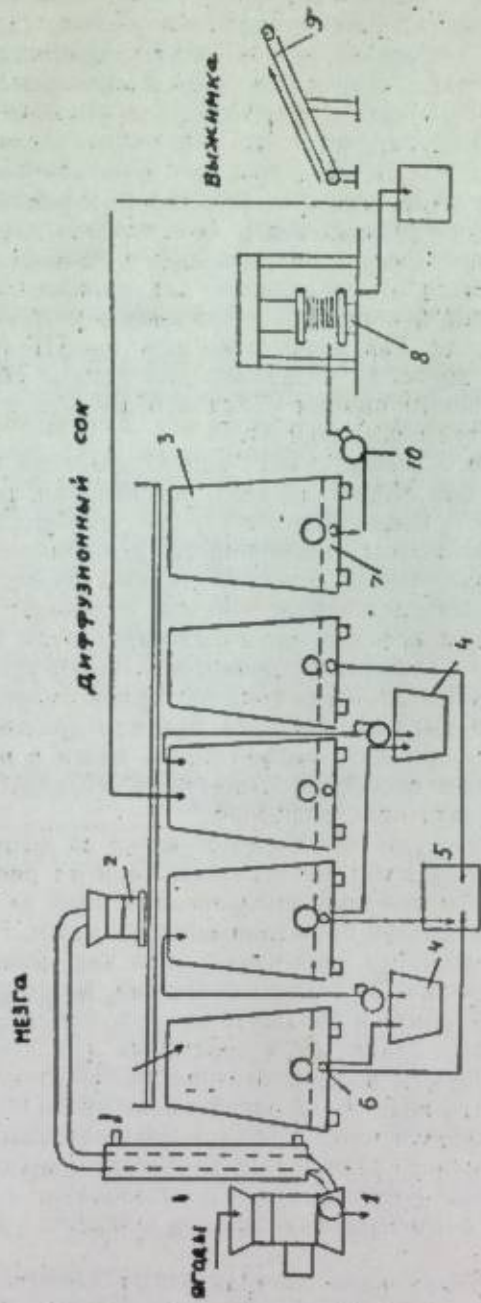


Рис. 1. Схема биодиффузионного способа извлечения сока из черной смородины. 1-Дробилка, Д-4, 2-дробилка КПД-3М, 3-ферментаторы — диффузоры, 4-промежуточные сборные емкости для сока, 5-суслоборники, 6-сливные краны, 7-дренажные решетки, 8-гидравлический пресс М-221, 9-ленточный транспортер, 10-мегагерцовый насос.

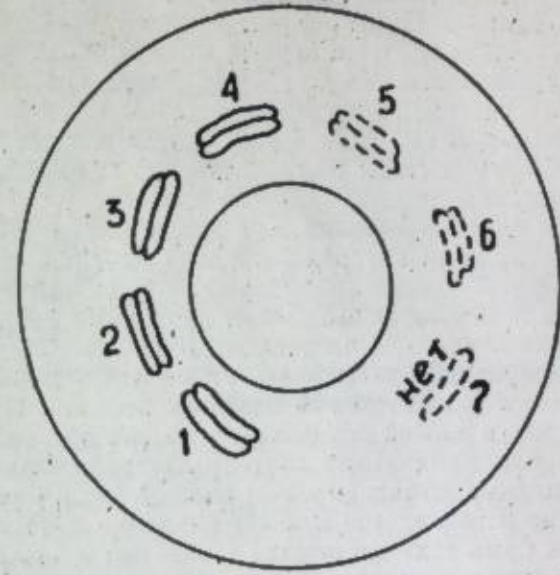


Рис. 2.

Хроматограмма галактуроновой кислоты сока малины, сбора 20/VIII-1964 г. Второй ряд пятен — красящие вещества; первый — галактуроновые кислоты: 1-после нагревания до 50°; 2-после 6-часовой выдержки с ферментным препаратом, 0,05%; 3 — после 6-часовой выдержки, без ферментного препарата ($d=1,048$); 4 — в первый период брожения; ($d=1,040$), 5 — к середине брожения; ($d=1,030$), — к концу брожения; ($d=1,020$), после полного сбраживания; ($d=1,010$), пятно отсутствует.

противотока с обеспечением обычных условий более полного извлечения всех полезных компонентов ягод и получения готового сока, близкого по составу к самотеку.

В результате внедрения этого способа в 1964 году выход сока (в пересчете по качеству на фракцию самотека) был увеличен, по сравнению с 1963 годом, на 7,8 дал из одной тонны ягод и достиг 77,8 дал. Вместе с этим, осуществление процессов ферментации и извлечения сока на одних и тех же аппаратах — ферментаторах-диффузорах уже теперь обеспечило значительное ускорение процесса переработки сырья с одновременным повышением, примерно вдвое, производительности труда.

Свойство дрожжей к образованию фермента ПГ, вызывающего быстрое разрушение пектиновых веществ ягод черной смородины, может быть использовано в технологической практике при получении только натурального сока. С этой целью

были выполнены специальные опыты по ферментации мезги до начала ее сбраживания. Эффект в сокоотдаче наблюдался нами во всех случаях уже в первый момент брожения мезги, когда в соке накапливалось до 1% об. спирта. Опыты, с полученным таким способом натуральным соком, показали, что он содержит активную ПГ. Уже через 6 часов выдержки нагретого до 50°C сока пектины были полностью гидролизованы, а вязкость снизилась до минимального предела.

В результате исследований для производства рекомендован способ получения натурального сока из черной смородины. Мезгу черной смородины выдерживают до момента начала брожения и активного выделения дрожжами в среду фермента ПГ. После этого ее нагревают до 50°C и выдерживают при этой температуре в течение до суток с целью дальнейшего более глубокого разрушения пектиновых веществ. Операцию нагревания мезги можно осуществить по способу прокачивания через нее по замкнутому контуру предварительно нагретого сока-самотека, отбираемого из нижней части емкости.

Улучшение в сокоотдаче при сбраживании сока на мезге наблюдалось нами также в опытах с малиной и виноградом.

Таким образом, использование и активирование ПГ сырья и дрожжей может явиться важным фактором интенсификации производственных процессов извлечения сока и повышения выхода и качества готовой продукции.

ФЕРМЕНТАТИВНОЕ ПРЕВРАЩЕНИЕ ГАЛАКТУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

1. Изменения в содержании галактуроновой кислоты в процессе ферментации ягодной мезги

Исследования по оценке ПГ действия ягод, дрожжей и грибного ферментного препарата выполнялись с использованием метода бумажной хроматографии по прописи А. В. Мельник и В. В. Арасимович (1961).

Все варианты опытов наносились в одинаковом количестве — по 6 мкл.

По величине пятен галактуроновой кислоты на нисходящих и радиальных хроматограммах было установлено, что наибольшие из них по величине и интенсивности окрашивания проявляются в вариантах с выдержкой или нагреванием мезги с ферментным препаратом, а также при обычной выдержке мезги без ферментного препарата.

В этих же опытах обнаружилась и другая любопытная закономерность. Если мезга подвергалась сбраживанию, то количество галактуроновой кислоты резко уменьшалось — почти до следов.

В опытах с ферментацией малины была получена аналогичная закономерность. Из радиальной хроматограммы (рис. 2) видно, что пятна галактуроновой кислоты в процессе брожения сока ослабевают, а затем полностью исчезают. Так, уже к концу брожения сока, когда его удельный вес оказался на уровне 1,030 пятно галактуроновой кислоты было уже еле заметным (пятно 6), а при снижении удельного веса до 1,020 и далее исчезло полностью.

В связи с этими наблюдениями не остается никакого сомнения в том, что дрожжи не только ускоряют процесс биохимического расщепления протопектинов и пектинов ягод с образованием галактуроновой кислоты, но и вызывают дальнейшее превращение последней.

2. Превращение и использование галактуроновой кислоты винными дрожжами

В предыдущем разделе было показано, что галактуроновая кислота — продукт гидролиза пектиновых веществ — исчезает в процессе брожения сусла, независимо от вида перерабатываемого на вино сырья. Ясно, что этот процесс происходит под действием дрожжей.

Для дальнейшего изучения этого вопроса нами использовалась методика качественного определения галактуроновой кислоты, предложенная Эрлихом (Ehrlich, 1932).

Одним из преимуществ выбранного метода является быстрое выполнение анализа, что дает возможность следить за процессом превращения галактуроновой кислоты в динамике и, кроме этого, в случае образования осадков другого цвета делать выводы о вновь образующемся веществе.

Метод основан на специфической реакции, протекающей при добавлении свежеприготовленного основного уксуснокислого свинца к раствору, содержащему галактуроновую кислоту. При этом выпадает осадок, сначала бесцветный, затем, при кипячении, становящийся розовым и, наконец, мясо-красным. С помощью этой очень характерной реакции возможно определить галактуроновую кислоту даже в незначительных количествах.

Глюкуроновая кислота по-иному относится к уксуснокислому свинцу. Так, при добавлении основного уксуснокислого свинца к раствору глюкуроновой кислоты образуется бесцветный осадок. При нагревании на водяной бане бесцветный раствор за короткое время мутнеет и смесь окрашивается в светло-розовый цвет. Появившаяся красноватая окраска быстро исчезает и появляется толстый слой осадка от желто-до красно-коричневой окраски, которая резко отличается от мясо-красной окраски осадка галактуроновой кислоты, полученного при таких же условиях.

Для выяснения вопроса о выделении в среду винными дрожжами фермента, расщепляющего галактуроновую кислоту, были проведены опыты со свежесброженным виноградным соком. Стерилизованный виноградный сок был засеян в стерильных условиях чистой культурой дрожжей *Sacch. vini*. После окончания брожения вино отделили от дрожжей фильтрацией и поставили опыт на содержание в этих фракциях вещества, вызывающего превращение галактуроновой кислоты, со следующими вариантами:

1. Контроль — 0,5%-ный раствор галактуроновой кислоты;
2. Контроль + растертые дрожжи;
3. Контроль + вино.

Дрожжевой осадок получали путем многократного его промывания водой декантацией и последующим растиранием в ступке со стеклом. Растертая масса дрожжевого осадка в соотношении 1:1 по объему смешивалась с контрольным раствором галактуроновой кислоты. Все варианты опыта термостатировались при 38—40°C.

В опыте во 2 и 3 вариантах было обнаружено постепенное исчезновение галактуроновой кислоты, начиная с 24-часовой выдержки проб. Полное отсутствие ее отмечалось на 5 сутки. В контрольном варианте галактуроновая кислота сохранялась. При этом во 2 и 3 вариантах было замечено исчезновение осадков мясо-красного цвета галактуроновой кислоты и образование осадков от желто-до ржаво-коричневого цвета, резко отличающихся от окраски осадков, вызываемых галактуроновой кислотой. Образование во 2 и 3 вариантах осадков такого цвета свидетельствует о наличии в растворе глюкуроновой кислоты. Таким образом, в результате этих опытов можно сделать вывод, что дрожжи в процессе брожения выделяют в среду фермент, превращающий галактуроновую кислоту в глюкуроновую.

С целью выяснения роли пектина в образовании фермента «галактуроназы» дрожжами и проверки наличия данного фермента в небродящих дрожжах были поставлены следующие варианты опыта:

1. Контроль — 0,5%-ный раствор галактуроновой кислоты;
2. Контроль + растертая масса дрожжей *Sacch. Vini*;
3. Контроль + растертая масса дрожжей *Sacch. Vini*, выращенных на полусинтетической среде Деверо и Танера с пектином вместо сахарозы (Прескотт, Дэн, 1952).
4. Контроль + растертая масса дрожжей *Sacch. Vini*, выращенная на среде Деверо и Танера без пектина с сахарозой в качестве источника углерода.

В результате опыта было установлено, что галактуроновая кислота на 5 сутки полностью превратилась в глюкуроновую

только в 3 варианте, оставшись без изменения в остальных. Отсюда очевидно, что для синтеза дрожжами фермента «галактуроназы», вызывающего превращение галактуроновой кислоты в глюкуроновую необходимо наличие в бродящей среде пектина. В исходной культуре дрожжей *Sacch. Vini* на агаровом косячке этот фермент отсутствует.

В ходе дальнейших опытов было выяснено, что вновь образующаяся глюкуроновая кислота под действием жизнедеятельных дрожжей подвергается последующим превращениям.

Таким образом, под действием винных дрожжей *Sacch. Vini* галактуроновая кислота в процессе брожения превращается в глюкуроновую. Такое превращение галактуроновой кислоты можно считать ферментативным, так как оно происходит не только в результате действия функционирующих дрожжей, но и сброженной среды, в которую дрожжи выделили фермент. Фермент, превращающий галактуроновую кислоту, в отличие от других специфических ферментов, действующих на пектиновые вещества, по-видимому, можно назвать галактуроназой. Вопрос этот требует еще дальнейших исследований.

Выделение фермента «галактуроназы» винными дрожжами *Sacch. Vini* происходит в случае наличия в бродящей жидкости пектиновых веществ. Видимо, синтез этого фермента дрожжами имеет адаптивный характер.

Жизнедеятельные дрожжи *Sacch. Vini* способны к дальнейшему преобразованию и глюкуроновой кислоты.

ВЫВОДЫ

1. Предложен способ расчета единиц активности полигалактуроназы по количеству микроэквивалентов разрушенных «эффективных» связей пектиновой молекулы, т. е. тех, которые определяют коллоидные свойства и повышенную вязкость растворов пектина.

2. В ягодах малины, черной смородины и винограда содержится фермент «протопектиназа», действие которого проявляется в процессе ферментации мезги. В черной смородине и малине подтверждено наличие собственной полигалактуроназы.

3. Установлена высокая полигалактуроназная активность винных дрожжей, ускоряющих расщепление коллоидной структуры мезги и сока черной смородины, малины и винограда до галактуроновой кислоты. В дальнейшем галактуроновая кислота в процессе брожения под действием винных дрожжей превращается в глюкуроновую. Такое превращение галактуроновой кислоты происходит не только под действием функционирующих дрожжей, но и ферментов, выделяемых дрожжами в вино.

4. Выделение винными дрожжами *Sacch. Vinii* фермента, вызывающего превращение галактуроновой кислоты в глюконовую, происходит при условии введения в сбраживаемую среду пектиновых веществ. Видимо, синтез этого фермента имеет адаптивный характер.

5. Жизнедеятельные дрожжи *Sacch. Vinii* способны к дальнейшему преобразованию глюкоуроновой кислоты с образованием еще не известных веществ.

6. Наибольший эффект в сокоотдаче наблюдается в процессе 4—6-часовой ферментации мезги малины с ферментным препаратом, внесенным в дозе 0,05%: Аналогичный эффект в сокоотдаче наблюдается для малины при 2-суточном, а для винограда — 3-суточном сбраживании мезги.

Интенсификация процесса биохимического разрушения пектинов мезги и соков ягод достигается совместным действием полигалактуроназы ферментного препарата и дрожжей.

7. Разработан и внедрен в производство биодиффузионный способ извлечения сока из черной смородины, применение которого приводит практически к полному извлечению всех содержащихся в ягодах экстрактивных веществ. Выход сока из черной смородины на Пржевальском комбинате в результате применения этого способа был увеличен, уже на первом году внедрения, на 7,8 дал сока из 1 тонны ягод.

8. Для соков черной смородины, малины и винограда составлена шкала минимальных пределов вязкости, типичных для момента полного гидролиза их коллоидной системы.

Предложен новый способ расчета и определения момента полного гидролиза ягодных соков в процессе их ферментации, что упрощает осуществление технохимического контроля.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Полигалактуроназное действие винных дрожжей на пектины черной смородины. (Совместно с А. А. Мартаковым и С. Ю. Максимовой). Труды первой конференции биохимиков республик Средней Азии и Казахстана, 1967.

2. Фотометрическое определение метилового спирта. (Совместно с А. А. Мартаковым и С. Ю. Максимовой). Труды первой конференции биохимиков республик Средней Азии и Казахстана, 1967.

3. Оценка активности полигалактуроназы ягод, дрожжей и пектолитического препарата. (Совместно с А. А. Мартаковым). «Известия» АН КазССР, серия биологическая, № 3, 1968.

4. Ферментативное превращение галактуроновой кислоты. (Совместно с А. А. Мартаковым). «Известия» АН КазССР, серия биологическая (в печати).

5. Превращение галактуроновой кислоты в процессе брожения сула. (Совместно с А. А. Мартаковым). Прикладная биохимия и микробиология. Том 4-й, выпуск 4. 1968 год.

Результаты исследований были доложены на Первой конференции биохимиков республик Средней Азии и Казахстана (октябрь, 1966, Алма-Ата).