

УДК 577.15.063

БИОХИМИЯ

И. А. ЕГОРОВ, А. К. РОДОПУЛО, Р. Х. ЕГОФАРОВА

ИССЛЕДОВАНИЕ АРОМАТОБРАЗУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ У ВИННЫХ ДРОЖЖЕЙ

(Представлено академиком А. И. Опариным 3 XII 1975)

Среди микроорганизмов, имеющих важное значение в виноделии и особенно для изготовления шампанского, ведущую роль играют винные дрожжи. Они не только сбраживают сахар и превращают его в этиловый спирт, но и образуют вторичные и побочные продукты, из которых складывается букет вина и шампанского.

В настоящее время хорошо изучено превращение аминокислот виноградного сусла в алифатические и ароматические спирты и синтез из них сложных эфиров, от которых в основном зависит букет шампанского ⁽¹⁾.

Исследованы отдельные классы липидов в дрожжах и накопление их в процессе культивирования ⁽²⁾. Однако до настоящего времени не установлено, что в дрожжевой клетке содержатся этиловые эфиры линолевой и линоленовой кислот. Показано ⁽³⁾, что на букет шампанского влияют высококипящие эфиры, цис- и транс-фарнезол и что «подсолнечный» тон шампанского обуславливает этиллинолеат. Так как шампанские виноматериалы почти не обладают «подсолнечным» тоном, то этот тон появляется после трехлетней выдержки шампанского на дрожжах.

Целью настоящей работы является изучение образования и накопления этиллинолеата и других высококипящих эфиров жирных кислот, а также цис- и транс-фарнезола при различных возрастах винных дрожжей.

Объектом для исследования служили шампанские дрожжи. Два образца 2-суточных и 5-суточных дрожжей по 10 г в виде пасты подвергали центрифугированию и осадки промывали физиологическим раствором три раза. Затем дрожжи лиофилизировали и гидролизовали в 20 объемах соляной кислоты по методу Сузуки ⁽⁴⁾. Третий образец, 5-суточную культуру, после

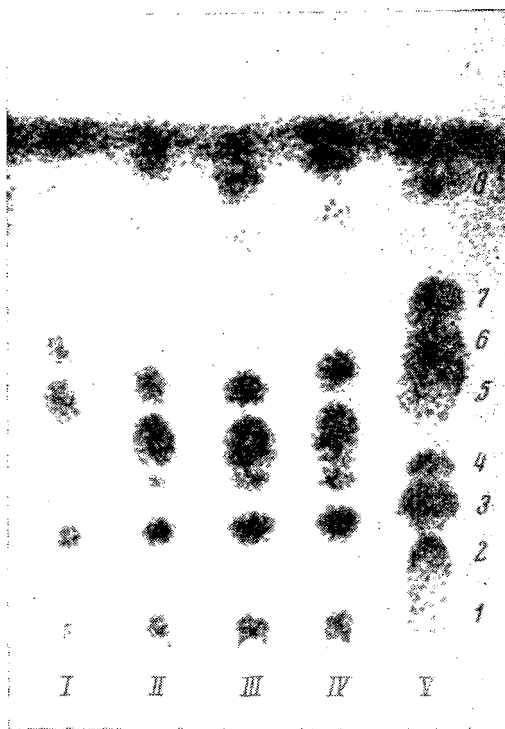


Рис. 1. Тонкослойная хроматограмма липидов винных дрожжей. I — 5 мкл, II — 10 мкл, III — 15 мкл, IV — 20 мкл, V — метчики. 1, 2 — фосфолипиды, 3, 4 — жирные кислоты, 5, 6 — триглицериды, 7 — алкоксидиглицериды, 8 — эфиры стерinov

Таблица 1

Содержание эфиров, спиртов и терпенов, входящих в состав винных дрожжей, обработанных по методу Суцuki (мг/кг)

№№ по рис. (°)	Компоненты	Винные дрожжи лиофилизированные		№№ по рис. (°)	Компоненты	Винные дрожжи лиофилизированные	
		2-суточ-ные	5-суточ-ные			2-суточ-ные	5-суточ-ные
1	Растворитель	+	+	26	Этиллаурат	0,09	0,07
2	Ацетальдегид	1,28	1,32	27	Неизвестный	+	+
3	Пропионовый альдегид	1,25	2,75	28	β-Фенилэтанол	0,06	0,15
4	Этилформиат	0,25	0,58	29	Изоамилпеларгонат	0,14	0,11
5	Этилацетат	0,82	0,19	30	Неизвестный	+	+
6	Этанол	0,21	1,38	31	Неизвестный	+	+
7	Изопропанол	0,55	0,40	32	Гексилкаприлат	0,06	0,5
8	Пропилацетат	0,052	0,15	33	Неизвестный	+	+
9	Этилизобутират	0,025	0,08	34	Фенилэтилкапроат	0,15	1,02
10	Пропанол	0,06	0,06	35	β-Ионон	0,06	0,18
11	Изобутанол	0,08	0,13	36	Неизвестный	+	+
12	Бутанол	0,08	0,16	37	Неизвестный	+	+
13	Изопентанол	0,18	0,4	38	Этилмалат	0,1	0,06
14	n-Пентанол	0,07	0,8	39	Уксусная кислота	0,08	0,1
15	Этиллактат	0,09	0,5	40	Этилпальмитат	0,15	0,1
16	Изобутилкапроат	0,05	0,06	41	Гексиллаурат	0,07	0,09
17	Гептилацетат	0,14	0,24	42	Изоамилмиристат	0,08	0,1
18	Изобутиллактат	1,48	1,38	43	Цис-фарнезол	0,46	2,1
19	Этилсукцинат	1,32	2,1	44	Транс-фарнезол	0,34	2,7
20	Этилпеларгонат	0,05	0,08	45	Гексилмиристат	0,07	0,09
21	Изоамиллактат	0,06	0,06	46	Неизвестный	+	+
22	Изобутилкаприлат	0,05	0,08	47	Этиллиннолеат	0,78	5,8
23	Нонилацетат	0,08	0,09	48—56	Неизвестные	+	+
24	Гептилвалериат	0,08	0,08				
25	Гексилкапроат	0,06	0,08		Итого	9,70	23,10

промывания физиологическим раствором подвергали прессованию под давлением 120—150 атм. при -70° в камере пять раз по методу Любимова и Львова (5).

Все три эфирные экстракта высушивали безводным сернокислым аммонием и концентрировали до 0,5 мл при 40° на колонке, наполненной кольцами Рашига. Полученный концентрированный экстракт хроматографировали в тонком слое кизельгеля (6) и на газожидкостном хроматографе «Вариан» 1800. Условия хроматографирования описаны ранее (7).

На рис. 1 представлена хроматограмма, в тонком слое которой показан состав липидов винных дрожжей (3-й образец). В них входят фосфолипиды, жирные кислоты, триглицериды, алкоксидиглицериды и эфиры стеролов.

В табл. 1 приведены данные газожидкостного хроматографического анализа, которые характеризуют химический состав ароматобразующих винных дрожжей, полученных по методу, описанному в (4). Как видно из табл. 1, в состав дрожжей входят соединения различных классов: спирты алифатические с C_2 до C_9 и ароматический спирт β-фенилэтанол, терпеноиды — цис- и транс-фарнезол, β-ионон, сложные эфиры, образовавшиеся из этих спиртов и жирных кислот.

Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что общее число компонентов, содержащихся в составе дрожжевых клеток, составляет 56 веществ. Общий вес ароматобразующих веществ, входящих в состав 2-суточной культуры дрожжей, составляет 9,70 мг/кг, а 5-суточной 23,1 мг/кг.

Таблица 2

Содержание эфиров, спиртов и терпенов, входящих в состав винных дрожжей, обработанных по методу Любимова и Львова (мг/кг)

№№ по рис. (5)	Компонент	Винные дрожжи	№№ по рис. (5)	Компонент	Винные дрожжи
1	Растворитель	+	24	Неизвестный	+
2	Ацетальдегид	1,44	25	Неизвестный	+
3	Пропионовый альдегид	1,0	26	Изоамилпеларгонат	0,12
4	Этилформат	1,06	27	Неизвестный	+
5	Этилацетат	2,11	28	Гексилкаприлат	0,11
6	Этанол	2,3	29	Капронат β-фенилэтилового спирта	0,72
7	Изопропанол	3,0	30	β-Ионон	0,03
8	Пропилацетат	0,58	31	Этилмалат	0,40
9	Этилизобутират	0,06	32	Уксусная кислота	0,08
10	Пропанол	0,07	33	Этилнальмитат	0,56
11	Изобутанол	0,18	34	Изобутилмиристат	0,56
12	Бутанол	0,23	35	Гексиллаурат	0,1
13	Изопентанол	0,84	36	Неизвестный	+
14	n-Пентанол	0,16	37	Этилстеарат	0,11
15	Изоамилбутират	0,32	38	Изоамилмиристат	0,08
16	Гептаналь	0,55	39	Цис-фарнезол	7,8
17	Этилкаприлат	0,57	40	Транс-фарнезол	9,0
18	Этиллактат	0,97	41	Гексилмиристат	0,9
19	Изобутиллактат	0,08	42	Этиллинолеат	5,3
20	Этилсукцинат	0,22	43-46	Неизвестные	+
21	Изоамиллактат	0,03			
22	Нонилацетат	0,04			
23	Гексилкапронат	0,08		Итого	37,68

Таблица 3

Содержание отдельных классов соединений, полученных из дрожжей различных возрастов, обработанных разными способами (мг/кг)

Образцы дрожжей	Методы обработки	Алифатические спирты	Сложные эфиры жирных кислот	Терпеноиды
Двухсуточные	по Суцуки	1,23	6,267	0,86
Пятисуточные	по Суцуки	3,33	13,14	4,98
Пятисуточные	по Любимову и Львову	6,78	13,40	16,83

Таким образом, 5-суточные дрожжи более богаты ароматобразующими веществами, чем 2-суточные, причем такое увеличение наблюдается за счет этиллинолеата и цис- и транс-фарнезола, количество которых достигает в этом возрасте дрожжей 5,8; 2,1 и 2,7 мг/кг соответственно.

Как видно из табл. 2, в дрожжах, обработанных по методу Любимова и Львова, было выявлено 46 компонентов. Общий вес ароматобразующих веществ равен 37,68 мг/кг. Такое увеличение общего веса компонентов наблюдается за счет цис- и транс-фарнезола и этиллинолеата и составляет 7,8; 9,0 и 5,3 мг/кг соответственно.

В табл. 3 представлены классы соединений, обнаруженных в дрожжах различного возраста.

В дрожжах 5-суточного возраста, обработанных по методу Суцуки, содержится почти в два раза больше спиртов, чем в 2-суточных дрожжах. В 5-суточных дрожжах содержание сложных эфиров почти в два раза больше, а терпеноидов в пять раз больше, чем в 2-суточных дрожжах.

Дрожжи, обработанные по методу Любимова и Львова, содержат больше спиртов и терпенов, потому что эфирный экстракт, полученный из разрушенных дрожжей, не подвергался очищению от нелипидной части, как это предусмотрено по методу Фольча (4). Количество эфиров жирных

кислот в обоих методах одинаково. Метод Любимова и Львова дает больший выход терпеноидных соединений.

Сравнивая два метода выделения ароматобразующих веществ, следует указать, что по методу Любимова и Львова можно выделить из дрожжей больше цис- и транс-фарнезола, чем по методу Суцукки, а количество этиллинолеата в обоих методах почти одинаково. Известно, что цис- и транс-фарнезол придают шампанскому устойчивый букет, а этиллинолеат обуславливает его «подсолнечный» тон ⁽²⁾.

Метод Любимова и Львова более приемлем для улучшения качества шампанского, так как дрожжи не обрабатываются соляной кислотой.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР
Москва

Поступило
8 X 1975

ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. М. Сисакян, А. К. Родопуло, Н. Г. Саршивили, Биохимия виноделия, в. 7, 131 (1963). ² И. В. Залашко, Биосинтез липидов дрожжами, Минск, «Наука и техника», 1971. ³ А. К. Родопуло, Т. А. Кормакова, И. А. Егоров, Прикл. биохим. и микробиол., т. 11, в. 1, 107 (1975). ⁴ T. Suzuki, A. Takigawa, K. Hasegawa, Agr. and Biol. Chem., в. 37, № 11, 2653 (1973). ⁵ В. И. Любимов, Н. П. Львов, Прикл. биохим. и микробиол., т. 4, в. 5, 592 (1968). ⁶ Е. Шталь, Тонкослойная хроматография, ИЛ, 1965. ⁷ А. К. Родопуло, И. А. Егоров и др., Прикл. биохим. и микробиол., т. 10, в. 2, 270 (1974). ⁸ Y. Folch, L. Stoake, J. Stakly, J. Biol. Chem., в. 226, 497 (1951).