სურსათმცოდნეობა

ნახშირორჟანგის რეფიქსაცია და ლიზინის მეტაბოლიზმი ბუნებრივი სპირტული დუღილისა და ღვინის შამპანიზაციის დროს

ვარლამ აპლაკოვი
varlam.aplakovi@atsu.edu.ge
აკაკი წერეთლის სახელმწიფო უნივერსიტეტი
ქუთაისი, საქართველო

ექსპერიმენტებში შესწავლილია ნახშირორჟანგის ნახშირბადის გამოყენების შესაძლებლობათა გამოვლენა ლიზინის მეტაბოლიზმში ბუნებრივი სპირტული დუღილისა და ბოთლური შამპანიზაციის დროს. დადგენილია, რომ შეთვისებული ნახშირორჟანგის რაოდენობა პირველად დუღილში 4, 0 % - ს შეადგენს, მეორეული დუღილის პირობებში კი 5, 3 – 6 % - მდე იზრდება, თუმცა CO_2 - ის მატებასა და მის რეფიქსაციის ინტენსივობას შორის პირდაპირი კორელაციური კავშირი დუღილის ყველა სტადიაზე არ ვლინდება. მონაცემები გვიჩვენებს, რომ ორივე დუღილის პირობებში 1 ^{14}C - ლიზინისა და $^{14}CO_2$ - ის ნახშირბადების განაწილების სურათი საფუვრისა და ღვინის კომპონენტებში ერთიან ზოგად კანონზომიერებას გამოხატავს.

საკვანძო სიტყვები: *ლიზინი, ნახშირორჟანგი, საფუარი, სპირტული დუღილი.*

ნახშირორჟანგი სპირტული დუღილის ერთ-ერთი ძირითადი პროდუქტია, რომელიც თითქმის ყოველთვისაა ღვინოში, როგორც მისი ბუნებრივი შემადგენელი ნაწილი. ნახშირორჟანგის კონცენტრაცია ღვინომასალებში კვალიდან 2 გრამამდეა ლიტრში, ხოლო ცქრიალა ღვინოებში მისი რაოდენობა აღწევს 10 გ / ლ - ს.

სხვადასხვა ავტორების მრავალრიცხოვანი შრომებით დადასტურებულია, რომ ნახშირორჟანგის ფიქსაცია დამახასიათებელია ყველა ჰეტეროტროფული ორგანიზმისთვის. მათ ქსოვილებში მიმდინარეობს კარბოქსილირების რეაქციები, რომლებიც გამოყენებული ენერგიის წყაროს მიხედვით სამ ჯგუფად იყოფა: 1. რეაქციები, რომლებიც ატფ-ის ხარჯზე მიმდინარეობენ, 2. რეაქციები, რომლებიც მიმდინარეობენ პირიდინნუკლეოტიდების დაჟანგვისას გამოყოფილი ენერგიის ხარჯზე, 3. რეაქციები, რომლებიც ენერგიას არ საჭიროებენ (Гулий 1980: 185-204).

ნახშირორჟანგის ასიმილაცია საფუვრების მიერ მრავალრიცხოვანი

ექსპერიმენტებით არის დადასტურებული. დუღილის ძირითადი პროდუქტების შეთვისება და გარდაქმნა ღვინის საფუვრების მიერ დაამტკიცა ს. დურმიშიძემ (Дурмишидзе 1962: 3–18). სპირტული დუღილის პროცესში საფუვრის ბიომასაში ერთვებოდა ნახშირორჟანგის საწყისი რადიოაქტივობის 3 %. ნახშირორჟანგის ნახშირბადი მონაწილეობას იღებდა გლიცერინის, ქარვამჟავის, ძმარმჟავის და ეთანოლის სინთეზში. ნახშირორჟანგის ასიმილაციის პროდუქტები საფუარსა და ღვინოში შესწავლილი იქნა მეორეული სპირტული დუღილის დროსაც (Киртадзе 1992: 62-81). დადგენილია დუღილის პროცესის დინამიკა ღვინის შამპანიზაციისას (Пищиков 1997: 24-26).

ობიექტი და ამოცანები. სამუშაოს მიზანს შეადგენდა საფუვრების მიერ ნახშირორჟანგის ნახშირბადის გამოყენების შესაძლებლობათა გამოვლენა ლიზინის ბიოსინთეზში ბუნებრივი სპირტული დუღილისა და ბოთლური შამპანიზაციის დროს. მადუღარ აგენტად გამოყენებული იყო ღვინის საფუვრების საწარმოო შტამი Saccharomyces vini – 39, რომელიც დუღილის დროს კოლონიებს იძლევა და წარმოქმნის წვრილმარცვლოვან ლექს.

ბუნებრივი სპირტული დუღილის წარმოებისათვის გამოვიყენეთ ყურძნის წვენი შაქრიანობით 19, 3 % და pH – 3, 8. ცდების დაყენების წინ ყურძნის ტკბილი დავაყოვნეთ მექნიკური ნაწილის, ღვინის ქვის, ცილოვანი და სხვა ნაერთების დასალექად, რის შემდეგ საბოლოოდ გავასუფთავეთ ცენტრიფუგირებით და გავასტერილეთ. დუღილს ვაწარმოებდით 300 მლ-იან კოლბებში, რომლებშიც სტერილურ პირობებში შეტანილი იყო 150 მლ ყურძნის გასტერილებული წვენი. მასში ცდის პირობების გათვალისწინებით სტერილურად შეგვქონდა სხვადასხვა რადიოაქტიური ნაერთი და 48-საათიანი საფუვრის წმინდა კულტურა, სადუღარი არის მოცულობის 3%-ის რაოდენობით. ალკოჰოლურ დუღილს ვაწარმოებდით ანაერობულ პირობებში. კოლბებს უკეთდებოდა სპეციალური დუღილის სარქველები, რომლის მუხლებშიც ჩასხმული იყო H_2SO_4. სისტემასთან შეერთებული იყო ერთმანეთთან დაკავშირებული ოთხი მშთანთქმელი. პირველ მშთანთქმელში ჩასხმული იყო სტერილური წყალი, დანარჩენი სამი კი შეიცავდა 30 %-იან KOH-ს გამოყოფილი ნახშირორჟანგის შესაბოჭად. გოგირდმჟავა და წყალი ახდენდა იმ მქროლავი ნაერთების შებოჭვას, რომლებიც შესაძლოა ნახშირორჟანგთან ერთად გადასულიყო მშანთქმელების სისტემაში. მადუღარ არეში ვატარებდით სტერილურ აზოტს ანაერობული პირობების შესაქმნელად. ცდების დამთავრების შემდეგ საფუარი სცილდებოდა დადუღებულ არეს ცენტრიფუგირებით,

ირეცხებოდა არარადიოაქტიური ღვინითა და წყლით ბიომასაზე ადსორბირებული რადიოაქტიური ნაერთების მოცილებამდე. შემდეგ ვატარებდით შესაბამის ანალიზებს.

მეორეული დუღილის სადუღარ არეს ვამზადებდით ბოთლური შამპანიზაციისათვის დამტკიცებული ტექნოლოგიური ინსტრუქციის შესაბამისად. ღვინომასალა მიიღებოდა ყურძნის სპეციალური ჯიშების ევროპული მეთოდით გადამუშავების შედეგად. ღვინომასალების წინასწარი დამუშავება ხდებოდა ასამბლაჟით, რის შემდეგ დამზადებული კუპაჟის შედგენილობა ასეთი იყო: ციცქა – 50%, ჩინური – 30%, პინო – 5%, ალიგოტე – 5%, დაძველებული სამწლიანი ღვინო ჩინური 10 %. მეორეული დუღილის შედეგად წარმოქმნილი CO_2–ის შესაბოჭად გამოვიყენეთ აფრომეტრი. მასზე დაყენებული მანომეტრით ვსაზღვრავდით ნახშირორჟანგის წნევას ბოთლში ცდის მოხსნის მომენტისთვის, რაც, თავის მხრივ, დუღილის ნორმალური მსვლელობის ერთ - ერთი მაჩვენებელი იყო. აფრომეტრს ჰქონდა გაზგამომყვანი მილი. მისი საშუალებით შეიძლებოდა CO_2–ის სასურველი ნაკადის გამოშვება ქიმიურად შესაბოჭად გამოყენებულ მშანთქმელების სისტემაში. აქაც გამოვიყენეთ 30%–იანი KOH, რომელიც ნახშირორჟანგის საუკეთესო მშანთქმელს წარმოადგენს.

ნიშანდებული ნაერთები $1^{14}C$ - ლიზინი და $KH^{14}CO_3$ ბუნებრივი სპირტული დუღილის შემთხვევაში არეში შეტანილი იყო 3, 45 მილიბეკერელის რადიაქტივობით 150 მლ ყურძნის წვენზე ანგარიშით, ხოლო ღვინის შამპანიზაციისას 18, 5 მილიბეკერელის რადიაოაქტივობით 800 მლ ღვინომასალაზე ანგარიშით. ინდივიდუალური ნაერთების იდენტიფიცირებისათვის გამოიყენებოდა ქიმიური, ქრომატოგრაფიული და ავტორადიოგრაფიული მეთოდები. რადიოაქტივობა ისაზღვრებოდა სტინცილაციურ სპექტრომეტრზე. ანალიზების ნაწილი ჩავატარეთ სერგი დურმიშიძის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტში.

კვლევის შედეგები. მიღებული შედეგები გვიჩვენებს, რომ საფუვრები ითვისებენ არეში შეტანილი $1^{14}C$ - ლიზინის 19%–ს პირველად დუღილში. ღვინის შამპანიზაციისას კი შეთვისებული ლიზინის რაოდენობა 12%–მდე მცირდება. შეთვისებული ნახშირორჟანგის რაოდენობა ბუნებრივი სპირტული დუღილისას 4 %–ს შეადგენს, მეორეული დუღილის პირობებში 5,3–6%–მდე იზრდება. თუმცა, CO_2 - ის მატებასა და მის რეფიქსაციის ინტენსივობას შორის პირდაპირი კორელაციური კავშირი დუღილის ყველა სტადიაზე არ ვლინდება (აპლაკოვი 2000: 84 - 85).

მონაცემები გვიჩვენებს, რომ $1^{14}C$ - ლიზინისა და $^{14}CO_2$–

ის ნახშირბადების განაწილების სურათი საფუვრისა და ღვინის კომპონენეტებში ერთიან ზოგად კანონზომიერებას გამოხატავს როგორც ბუნებრივი სპირტული დუღილის, ასევე შამპანიზაციის პირობებში (ცხრილი 1). ლიზინის კარბოქსილური ნახშირბადი და ნახშირორჟანგი ძირითადად ღვინის კომპონენტების სინთეზში მონაწილეობს. ამასთანავე, საფუვრისა და ღვინის კომპონენტებში ^{14}C - ის ჯამური განაწილების სურათი ორივე დუღილის პირობებში ერთნაირია.

ცხრილი 1. ლიზინის და ნახშირორჟანგის რადიოაქტიური ნახშირბადების ჩართვა საფუვრისა და ღვინის კომპონენტებში ბუნებრივი სპირტული დუღილისა და ღვინის შამპანიზაციის დროს

ცდის პირობები	სადუღარ არეში შეტანილი ^{14}C - ნაერთები	რადიოაქტივობის განაწილება % - ით	
		ბიომასაში	ღვინის კომპონენტებში
პირველადი დუღილი	$1^{14}C$ - ლიზინი	16, 2	83, 8
	$KH^{14}CO_3$	11, 8	88, 2
მეორეული დუღილი	$1^{14}C$ - ლიზინი	13, 5	86, 5
	$KH^{14}CO_3$	15, 3	84, 7

შესწავლილი ნაერთები ბიომასაში ჩართვისას მონაწილეობას იღებენ საფუვრის ცილების, ლიპიდების და პოლისაქარიდების სინთეზში (ცხრილი 2).

ცხრილი 2. ლიზინისა და ნახშირორჟანგის რადიოაქტიური ნახშირბადების ჩართვა საფუვრის ცილების, ლიპიდებისა და პოლისაქარიდების ფრაქციებში ბუნებრივი სპირტული დუღილისა და ღვინის შამპანიზაციის დროს

ცდის პირობები	სადუღარ არეში შეტანილი ^{14}C - ნაერთები	რადიოაქტივობის განაწილება % - ით		
		ცილები	პოლისაქარიდები	ლიპიდები
პირველადი დუღილი	$1^{14}C$ - ლიზინი	95, 8	-	4, 2
	$KH^{14}CO_3$	92, 4	-	7, 6

მეორეული დუღილი	$1^{14}C$ - ლიზინი	89, 7	3, 0	7, 3
	$KH^{14}CO_3$	84, 6	4, 5	10, 9

აშკარად ჩანს, რომ როგორც ლიზინის, ასევე ნახშირორჟანგის ნახშირბადატომები უპირატესად ცილების ფრაქციაში ერთვება. რადიოაქტივობის პროცენტული განაწილება საფუვრიდან გამოყოფილ ფრაქციებს შორის გვიჩვენებს, რომ პოლისაქარიდებისა და ლიპიდების ფრაქციათა რადიოაქტივობა რამდენადმე განსხვავებულია. ლიპიდების შედარებით მაღალი რადიოაქტივობა შეინიშნება ნახშირორჟანგის შეთვისების დროს, განსაკუთრებით შამპანიზაციის პროცესში. საფუვრის სამარაგო ნახშირწყლების რადიოაქტივობა ერთნაირად ვლინდება ლიზინის კარბოქსილური ნახშირბადისა და ნახშირორჟანგის შეთვისების დროს. ამასთანავე, თუ მხედველობაში მივიღებთ იმასაც, რომ ლიზინის კარბოქსილური ნახშირბადი ნახშირორჟანგამდე ნაწილობრივ იჟანგება, სავარაუდოა, რომ ლიზინის გარდაქმნის პროდუქტების გარკვეული ნაწილი სწორედ მისი CO_2 - მდე დაჟანგვისა და ამ უკანასკნელის რეფიქსაციის შედეგი იყოს, რასაც ენზიმატური გამოკვლევებიც ადასტურებს (Kirtadze 2009: 110 – 116).

ცხრილი 3. რადიოაქტივობის განაწილება %–ით საფუვრისა და ღვინის ინდივიდუალურ ნაერთებში ნახშირორჟანგის შეთვისებისას ბუნებრივი სპირტული დუღილის დროს

იდენტიფიცირებულ ნაერთების რადიოაქტივობა % - ით ფრაქციის საერთო აქტივობიდან			
საფუარში		ღვინოში	
ცილის ამინომჟავები	თავისუფალი ამინომჟავები	ამინომჟავები	ორგანული მჟავები
82, 4 %	17, 6 %	21, 8 %	78, 2 %
ასპარაგინმჟავა 31, 0	გლუტამინმჟავა 29, 8	ვალინი 40, 3	ქარვამჟავა 41, 1
ლიზინი 19, 3	ასპარაგინმჟავა 27, 1	ლიზინი 24, 4	ვაშლმჟავა 38, 8
გლუტამინმჟავა 17, 4	ლიზინი 18, 5	თიროზინი 16, 3	გლიოქსალმჟავა 15, 1
არგინინი 10, 8	ვალინი 16, 2	ტრეონინი 11, 8	ფუმარმჟავა 4, 0
ვალინი 7, 7	ალანინი 8, 4	ფენილალანინი 5, 2	გლიკოლმჟავა 1, 0
ფენილალანინი 6, 2	-	გლუტამინმჟავა 2, 0	-
ალანინი 4, 9	-	-	-
პროლინი 2, 7	-	-	-

ჩვენი ცდების პირობებში (ცხრილი 3, 4) დუღილის ბოლოსთვის ბიომასაში რადიოაქტიური აღმოჩნდა ცილისა და თავისუფალი ამინომჟავები, ხოლო ღვინოში - ორგანული მჟავები და ამინომჟავები. ნახშირორჟანგის ნახშირბადი ერთვება სხვადასხვა გენეტიკური წარმოშობის საფუვრის ცილების ამინომჟავათა სინთეზში. ყველაზე რადიოაქტივობით გამოირჩევა ასპარაგინმჟავა, ლიზინი და გლუტამინმჟავა, როგორც ყურძნის წვენის დუღილის, ისე შამპანიზაციის დროს. მსგავსი განაწილება შეინიშნება თავისუფალ ამინომჟავათა ფონდშიც. ღვინის ამინომჟავათა შორის მაღალი რადიოაქტივობით გამოირჩევა ვალინი და ლიზინი.

ცხრილი 4. რადიოაქტივობის განაწილება % - ით საფუვრისა და ღვინის ინდივიდუალურ ნაერთებში ნახშირორჟანგის შეთვისებისას მეორეული სპირტული დუღილის დროს

იდენტიფიცირებულ ნაერთების რადიოაქტივობა % - ით ფრაქციის საერთო აქტივობიდან			
საფუარში		ღვინოში	
ცილის ამინომჟავები	თავისუფალი ამინომჟავები	ამინომჟავები	ორგანული მჟავები
80, 6 %	19, 4 %	19, 2 %	80, 8 %
ასპარაგინმჟავა 27, 5	გლუტამინმჟავა 27, 8	ვალინი 38, 6	ქარვამჟავა 39, 1
ლიზინი 18, 1	ასპარაგინმჟავა 26, 9	ლიზინი 23, 1	ვაშლმჟავა 30, 4
ასპარაგინი 16, 0	ლიზინი 17, 8	თირეზინი 17, 6	გლიოქსალმჟავა 24, 4
გლუტამინმჟავა 10, 9	ვალინი 15, 3	ტრეონინი 12, 7	ფუმარმჟავა 3, 7
არგინინი 8, 6	ალანინი 12, 2	ფენილალანინი 4, 2	გლიკოლმჟავა 2, 4
ვალინი 6, 5	-	გლუტამინმჟავა 3, 8	-
ფენილალანინი5, 1	-	-	-
ალანინი 4, 7	-	-	-
პროლინი 2, 6	-	-	-

ნახშირორჟანგის რეფიქსაციის შედეგად რადიოაქტიური აღმოჩნდა პირუვატის (ალანინი, ვალინი), მჟაუნძმარმჟავას (ასპარაგინმჟავა, ლიზინი, ასპარაგინი) და α - კეტოგლუტარმჟავას (გლუტამინმჟავა, არგინინი) ოჯახის წარმომადგენელი ამინომჟავები. ნახშირორჟანგის ნახშირბადი მონაწილეობას იღებს აგრეთვე პროლინის სინთეზშიც, რომლის რადიოაქტივობა ღვინოში იზრდება შამპანიზაციის დროს. ჭარბი წნევა გავლენას ახდენს პროტეინაზების, პეპტიდაზების, ზოგიერთი

ტრანსფერაზების აქტივობაზე და ხელს უწყობს ღვინომასალებში აზოტოვან ნივთიერებათა მაღალ შემცველობას, რაც მხედველობაშია მისაღები სხვადასხვა ტიპის ღვინოების წარმოების ტექნოლოგიაში.

დასკვნა. საფუვრების მიერ ნახშირორჟანგის შეთვისებისა და გარდაქმნის შედეგად არეში იდენტიფიცირებულია რადიოაქტიური ორგანული მჟავები და ამინომჟავები. მათი შედგენილობა და რადიოაქტივობის განაწილება ცალკეულ ნაერთთა შორის წარმოდგენას გვაძლევს საფუვრების მიერ ნახშირორჟანგის გამოყენების გზებზე. ღვინის რადიოაქტიურ კომპონენტებს შორის ძირითადია ორგანული მჟავები (78,2 % - 80,8 %). მათი შედგენილობა გვიჩვენებს, რომ დუღილის პროცესებში, თუმცა, უპირატესად მიმდინარეობს კარბოქსილირების და აღდგენითი რეაქციები, მაგრამ ფუნქციონირებს როგორც კრებსისა და გლიოქსალატის ციკლის რეაქციები, ასევე გარდაქმნის სხვა გზები.

როგორც ჩანს, CO_2-ის ფიქსაციის პროდუქტები კეტომჟავების, ოქსიმჟავების, სხვა ორგანული მჟავებისა და ამინომჟავების ბიოსინთეზის დროს რთულ და მრავალმხრივ გარდაქმნებს განიცდიან. საკმაოდ მნიშვნელოვანია ის ფაქტიც, უჯრედის მეტაბოლიტების კონცენტრაციის ცვლილება იწვევს ნახშირორჟანგის ფიქსაციის ინტენსივობის ცვლილებას. ზოგიერთი მეტაბოლიტი წარმოადგენს კარბოქსილირების რეაქციების სუბსტრატებს, სხვები კი კარბოქსილაზების აქტივატორების ან ინჰიბიტორების როლს ასრულებენ (Moreno – Arribas 2009: 3 - 27).

ლიტერატურა

აპლაკოვი ვ., ე. კირთაძე. 2000. „ნახშირორჟანგის რეფიქსაცია და ლიზინის ბიოსინთეზი ღვინის შამპანიზაციის დროს“. *სასურსათო პროდუქტების წარმოების, ქიმიური მრეწველობის ტექნოლოგიებისა და ტექნიკის სრულყოფა.* საერთაშორისო სამეცნიერო - ტექნიკური კონფერენციის შრომები, ქუთაისის სახელმწიფო ტექნიკური უნივერსიტეტი.

Kirtadze E., N. Nutsubidze. 2009. „Metabolic Potential of Alcoholic Fermentation Yeast“. *Bulletin of The Georgian National Academy of Sciences*, 2009, vol. 3, N 1.

Victoria Moreno M., Arribas, M. 2009. *Carmen Polo, Wine Chemistry and Biochemistry.* Springer, 2009.

Гулий М. Ф., Мельничук Д. А. 1980. *Метаболическое значение углекислоты у гетеротрофных организмов, Успехи биологической химии.* Москва: Наука.

Дурмишидзе С. В. 1962. *Пути превращения основных и вторичных продуктов спиртового брожения*, Тбилиси, 1962.

Киртадзе Э. Г., Курдованидзе Т. М. 1992. *Биохимические особенности вторичного спиртового брожения.* Тбилиси.

Пищиков Г. Б., Саришвили Н. Г. 1997. „Динамика процесса брожения при шампанизации вина“. *Виноград и вино России*, N 3, 1997.

Food Science

Carbon Dioxide Refixation and Lysine Metabolism During Natural Alcoholic Fermentation and Wine Champagnization

Varlam Aplakov
varlam.aplakovi@atsu.edu.ge
Akaki Tsereteli State University
Kutaisi, Georgia

The possibilities of using carbon dioxide carbon in the metabolism of lysine in natural alcoholic fermentation and champagnization of wines have been studied in the experiments. It is estimated that the amount of absorbed carbon dioxide in primary fermentation is 4.0%, and in the conditions of secondary alcoholic fermentation it increases to 5.3-6%.

Keywords: *Lysine, yeast, carbon dioxide, alcoholic fermentation.*

Object and tasks. The aim of the work was to reveal the possibilities of carbon dioxide carbon utilization by yeasts in the biosynthesis of lysine in the process of natural alcoholic fermentation and bottling champagnization. As a fermentation agent industrial strain of yeast Saccharomyces vini – 39 was used, which during fermentation forms colonies and creates small – granular sediment.

Marked compounds $1^{14}C$ - lysine and $KH^{14}CO3$ were included in the area in the case of natural alcoholic fermentation with a radioactivity of 3.45 millibecquerels per 150 ml of grape juice, and during wine champagnization with a radioactivity of 18.5 millibequerels per 800 ml of wine.

Chemical, chromatographic and autoradiographic methods were used to identify individual compounds. Radioactivity was measured with a scintillation spectrometer. We conducted part of the analyzes at Sergi Durmishidze Institute of Biochemistry and Biotechnology.

Research Results. The obtained results show that the yeasts absorb 19% of the $1^{14}C$ - lysine included in the natural alcholic fermentation. During wine champangization, the amount of absorbed lysine decreases to 12%. The amount of absorbed carbon dioxide during natural alcoholic fermentation is 4%, under the conditions of secondary fermentation it increases to 5.3-6%. However, a direct correlation between the increase of CO_2 and the intensity of its refixation is not revealed at all stages of fermentation.

The data show that the carbon distribution picture of $1^{14}C$ - lysine and $^{14}CO_2$ in yeast and wine components shows the same general regularity under both natural alcoholic fermentation and champagnization conditions.

Conclusion. As a result of absorption and transformation of carbon dioxide by yeasts, radioactive organic acids and amino acids have been identified in the area. Their composition and the distribution of radioactivity among individual compounds give us an idea of the ways in which yeasts use carbon dioxide. The main radioactive components of wine are organic acids (78.2% - 80.8%). Their composition shows that carboxylation and reduction reactions take place predominantly in fermentation processes. Both Krebs and glyoxalate cycle reactions function, as well as other conversion pathways.