

М. А. БОКУЧАВА и В. Р. ПОПОВ

О РОЛИ ПЕРОКСИДАЗЫ И ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗЫ В ФЕРМЕНТАЦИИ ЧАЯ

(Представлено академиком А. И. Опариным 26 II 1948)

Биохимические процессы, совершающиеся при ферментации и приводящие к образованию ценных свойств чая, его вкуса, аромата и настоя, катализируются окислительными ферментами. Однако сформулированное в столь общей форме положение не разъясняет сущности ферментации. Более того, многочисленные исследования по этому вопросу приводят к весьма противоречивым результатам, так как в качестве вероятных агентов окисления выдвигаются различные окислительные ферменты. Одни связывают ферментацию чая с деятельностью пероксидазной системы (1, 2), другие — с действием цитохромоксидазы (3), третьи — с полифенолоксидазой (4). Какова действительная роль каждой из этих ферментных систем в процессе ферментации чая, как на это указывает А. Л. Курсанов (5), сказать в настоящее время трудно. Между тем выяснение этого вопроса представляло бы существенный интерес для теории и практики чайного производства.

Разработанный недавно новый принцип изучения пероксидазы (6) позволил изолировать действие этого фермента в процессе ферментации чая от действия других окислительных энзиматических систем и дал возможность подойти к решению указанной задачи.

Настоящее исследование было предпринято нами в 1947 г. в чайных районах Грузии (Анасеули, Чаква) с целью выяснения роли пероксидазы и полифенолоксидазы в ферментации чая.

Опыты проводились с молодыми чайными листьями, обычно идущими для производства черного чая. Быстро растертый завяленный лист делился на две части. Одна часть помещалась в модифицированную трубку Тунберга (6), в которой, путем удаления кислорода воздуха, исключалась возможность действия полифенолоксидазной системы; после этого в анаэробных условиях добавлялась H_2O_2 . Тем самым создавались условия работы для одной лишь пероксидазной системы. Другая часть листа оставлялась на воздухе для выяснения значения полифенолоксидазы.

В результате опытов выяснилось, что действие пероксидазной системы не приводит к образованию характерного цвета и аромата ферментированного листа не только за те сроки, в которые ферментация обычно проходит (4—6 час.), а даже после 24, 48, 60 час., в течение которых растертый лист в реакционном сосудике сохранял свой зеленый вид.

Между тем в результате действия полифенолоксидазы мы могли наблюдать образование характерного для ферментированного чайного листа аромата и окраски в течение 3—4 час.

Таблица 1

Изменение чайного листа при ферментации под действием полифенолоксидазы и пероксидазы

	Аромат	Цвет
Растертый чайный лист + H ₂ O ₂ в вакууме (пероксидаза)	Аромата нет, только запахи зеленого листа	Зеленый цвет без изменения
Растертый чайный лист на воздухе (полифенолоксидаза)	Характерный аромат ферментированного листа	Медно-красная окраска

Все это указывает на то, что, повидимому, образование аромата и чайного настоя при ферментации является результатом действия полифенолоксидазы.

Как известно, наряду с настоем и ароматом важнейшим показателем готового чая является его вкус, который также образуется во время ферментации чая. Согласно исследованиям А. И. Опарина (7), вкусовое качество чая тесно связано с его таннином. А. Л. Курсанов (8) и затем М. А. Бокучава (9), изучая превращение различных форм дубильных веществ, экспериментально показали, что при переработке чайного листа происходит уменьшение полифенолкатехинов и связанное с ними исчезновение горечи. Наряду с этим происходит увеличение чайного таннина, обуславливающее терпкость и полноту вкуса.

Для выяснения роли и значения полифенолоксидазы и пероксидазы в превращениях дубильных веществ чайного листа были поставлены следующие опыты. Очищенный препарат дубильных веществ чайного листа, выделенный без разделения на фракции, подвергался действию полифенолоксидазы и пероксидазы чайного листа.

При этом было установлено, что пероксидазное действие на чайный таннин не сопровождается образованием окрашенных продуктов окисления, но вызывает сильное падение титруемости. Действие же полифенолоксидазы вызывает образование окрашенных продуктов, но уменьшение титра выражено при этом слабее (табл. 2).

Таблица 2

Изменение чайного таннина под действием пероксидазы и полифенолоксидазы чая

	Таннин в мл 0,1 N KMnO ₄	Падение титруемости таннина		Характеристика опытного раствора
		в мл 0,1 N KMnO ₄	в % от исходного субстрата	
Исходный титр таннина	3,6	—	—	Бесцветный
После действия полифенолоксидазы	2,3	1,3	35,2	Коричнево-красный, типа чайного настоя
После действия пероксидазы	1,7	1,9	52,8	Слегка желтый

О различном характере пероксидазного и полифенолоксидазного действия говорит также и молекулярная характеристика продуктов реакции этих ферментов.

Если продукты превращения дубильных веществ чая после действия пероксидазы и полифенолоксидазы диализовать через целлофановую перепонку в строго одинаковых условиях, то можно наблюдать увеличение недиализуемой фракции высокомолекулярных дубильных веществ и соответственное уменьшение низкомолекулярной, диализуемой части. Полученные результаты представлены в табл. 3.

Таблица 3

Изменение молекулярного состояния дубильных веществ чая под действием окислительных ферментов

Система	Недиализуемый растворимый танин	
	в мг	в % от исходного
18,5 мг препарата чайного танина (исходный раствор)	2,0	10,8
То же + полифенолоксидаза	11,0	59,4
То же + пероксидаза + H ₂ O ₂	15,0	81,1

Как показывают приведенные данные, изменение дубильных веществ в случае пероксидазного действия выражено сильнее, чем при полифенолоксидазном.

О глубоком внутреннем изменении дубильных веществ в результате действия пероксидазы говорят также опыты по определению свободного флороглюцина в исходном субстрате и после действия ферментов (табл. 4).

Таблица 4

Изменение содержания флороглюцина под действием полифенолоксидазы и пероксидазы чайного листа

	Количество флороглюцина в γ
Исходный субстрат . .	36,0
После действия полифенолоксидазы	19,0
После действия пероксидазы	13,5

Мы видим, что, при общем падении содержания свободного флороглюцина в результате ферментативной деятельности, падение в случае пероксидазного действия больше. Это хорошо согласуется с исследованиями А. Л. Курсанова и сотрудников⁽¹⁰⁾, согласно которым по мере конденсации дубильных веществ происходит уменьшение свободного флороглюцина.

Эти глубокие изменения дубильных веществ под действием пероксидазы дают возможность полагать, что роль пероксидазы при ферментации чая состоит в изменении дубильных веществ и связанным с ним образованием вкусового качества готового продукта.

Таким образом, действие пероксидазы и полифенолоксидазы на чайный таннин, являющийся естественным субстратом в процессе ферментации чая, приводит к различным продуктам реакции.

Поступило
23 II 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ С. М. Манская, Биохимия чайного производства, сб. 1, 96, 1935. ² В. Е. Воронцов, Биохимия чая, 1946. ³ S. Deb and E. Roberts, *Biochem J.*, **34**, 1507 (1940). ⁴ H. Sreerangaiah, *ibid.*, **37**, 563, 656, 661, 667 (1943). ⁵ А. Л. Курсанов, Биохимия чайного производства, сб. 5, 7, 1946. ⁶ М. А. Бокучава, ДАН, **60**, № 3 (1948). ⁷ А. И. Опарин, Биохимия чайного производства, сб. 3, 15, 1937. ⁸ А. Л. Курсанов, Биохимия, **6**, в. 3, 12 (1942). ⁹ М. А. Бокучава, Биохимия, **11**, 263 (1946). ¹⁰ А. Л. Курсанов, К. М. Джемухадзе и М. Н. Запрометов, Биохимия, **12**, в. 5, 421 (1947).