

ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ

ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΑ ΑΛΚΟΟΛΙΚΗΣ ΖΥΜΩΣΗΣ



ΑΡΓΥΡΩ ΜΠΕΚΑΤΩΡΟΥ, PhD

ΑΝΑΠΛ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΧΗΜΕΙΑΣ, ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΠΑΤΡΩΝ

ΠΑΤΡΑ 2023

Αλκοολική ζύμωση

Ζύμωση είναι η διεργασία κατά την οποία ορισμένοι μικροοργανισμοί καταναλώνουν οργανικές ενώσεις για την παραγωγή ενέργειας και την πραγματοποίηση μεταβολικών τους οδών

Ειδικότερα:

Ζύμωση

Μετατροπή υδατανθράκων (σακχάρων) υπό αναερόβιες συνθήκες

Αλκοολική ζύμωση

μετατροπή υδατανθράκων σε αλκοόλη και διοξείδιο του άνθρακα

Αλκοολική ζύμωση

Εφαρμογές - σημασία για την τεχνολογία τροφίμων

- Παραγωγή αλκοολούχων ποτών (κρασί, μπίρα, αποστάγματα)
- Παραγωγή οиноπνεύματος για φαρμακευτική χρήση
- Παραγωγή οξικού οξέος
- Διόγκωση προϊόντων αρτοποιίας
- Καλύτερη συντήρηση τροφίμων

Αλκοολική ζύμωση

Εφαρμογές

- Μεγαλύτερη θρεπτική αξία των τροφίμων που παράγονται ή μετατρέπονται με αλκοολική ζύμωση:
 - ✓ αποικοδόμηση πολύπλοκων ενώσεων σε πιο αξιοποιήσιμες, π.χ. απελευθέρωση πολύτιμων συστατικών από μη αφομοιώσιμα υλικά όπως οι φυτικοί ιστοί με διάσπαση της κυτταρίνης και των ημικυτταρινών
 - ✓ σύνθεση βιταμινών και άλλων ουσιών

Αλκοολική ζύμωση

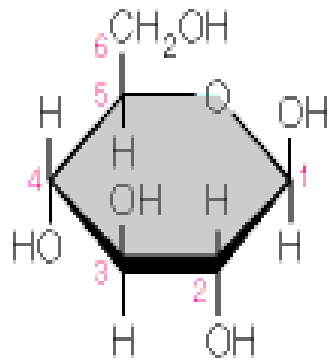
Μηχανισμός αλκοολικής ζύμωσης

Γλυκολυτική οδός

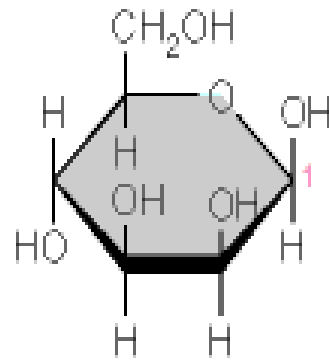
(μεταβολισμός γλυκόζης: κύρια πηγή ενέργειας στους ζωντανούς οργανισμούς)

✓ Υδατάνθρακες των τροφίμων, όπως σακχαρόζη & άμυλο, υφίστανται ενζυμική υδρόλυση προς γλυκόζη, φρουκτόζη & μαλτόζη, που είναι απευθείας ζυμώσιμα σάκχαρα

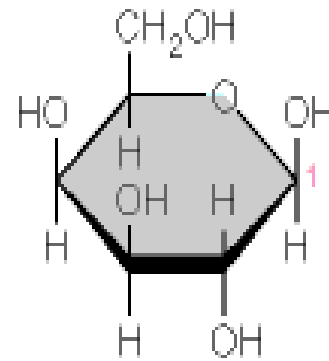
Απευθείας ζυμώσιμα σάκχαρα



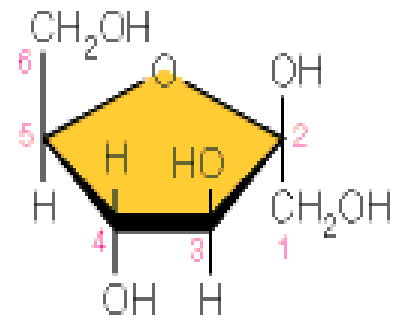
ΓΛΥΚΟΖΗ



ΜΑΝΝΟΖΗ

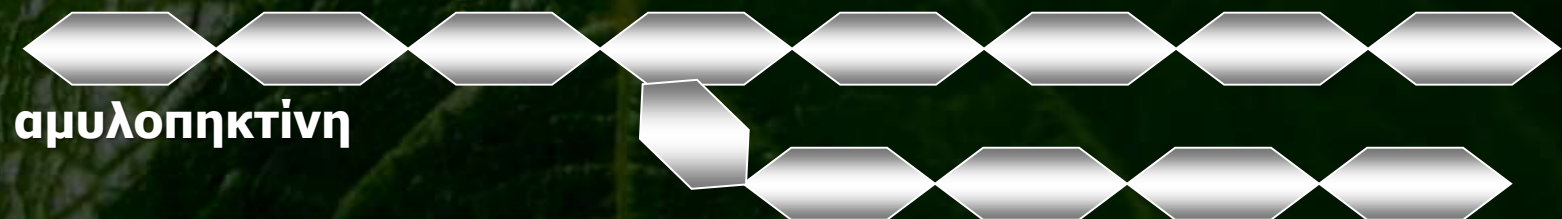
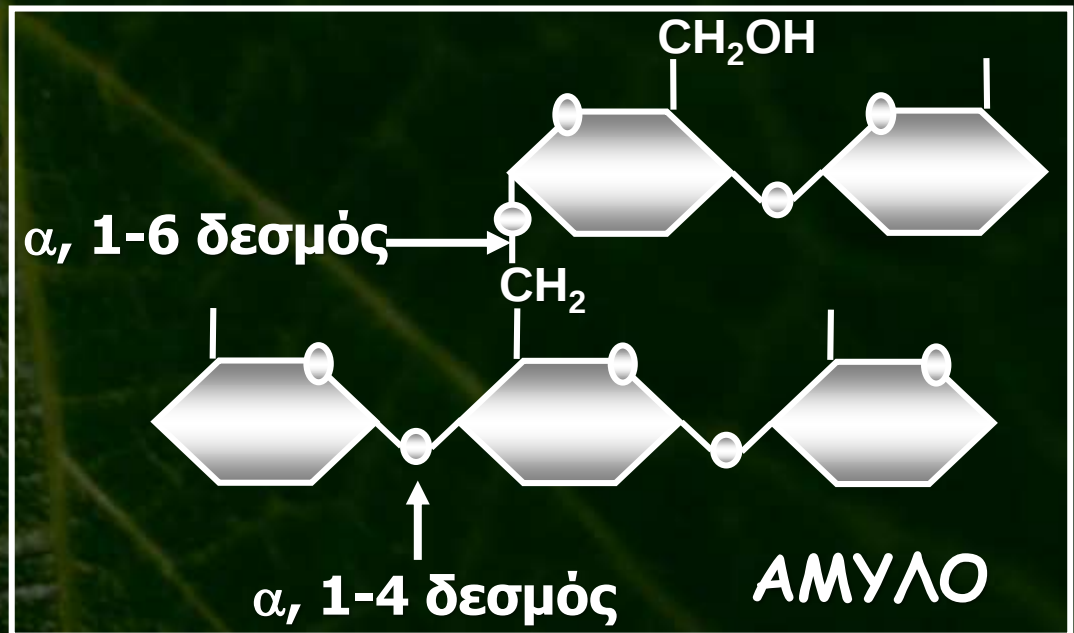


ΓΑΛΑΚΤΟΖΗ



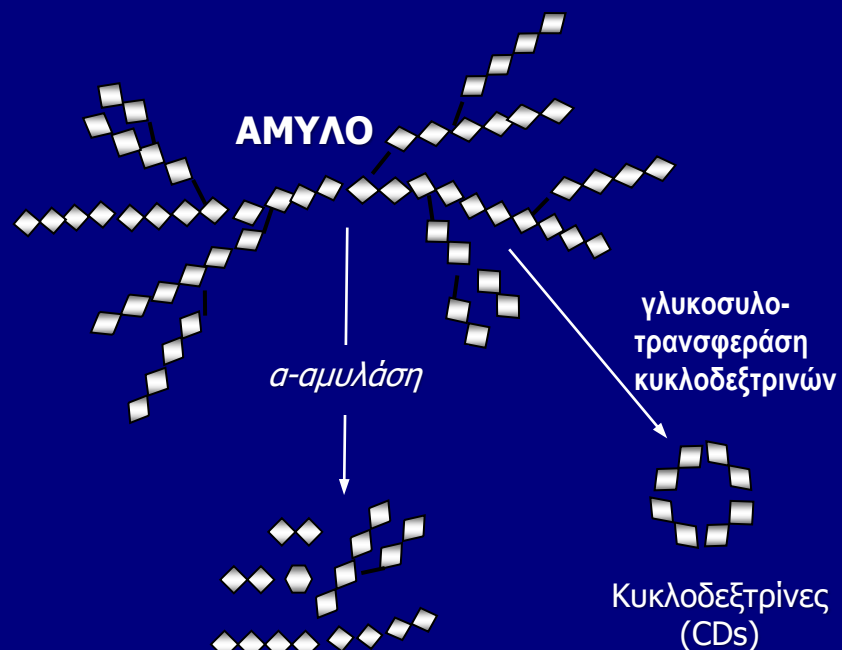
ΦΡΟΥΚΤΟΖΗ

Ζυμώσιμα σάκχαρα μετά από ενζ. υδρόλυση



Υδρόλυση του αμύλου

A. υγροποίηση



B. Σακχαροποίηση

α-αμυλάση

Ισοαμυλάση

Μαλτόζη & μαλτοτριόζη

Γραμμικοί & διακλαδισμένοι
ολιγοσακχαρίτες (δεξτρίνες)

Γλυκοαμυλάση &
ισοαμυλάση

Γλυκόζη
(σιρόπι γλυκόζης)

Ισομεράση γλυκόζης

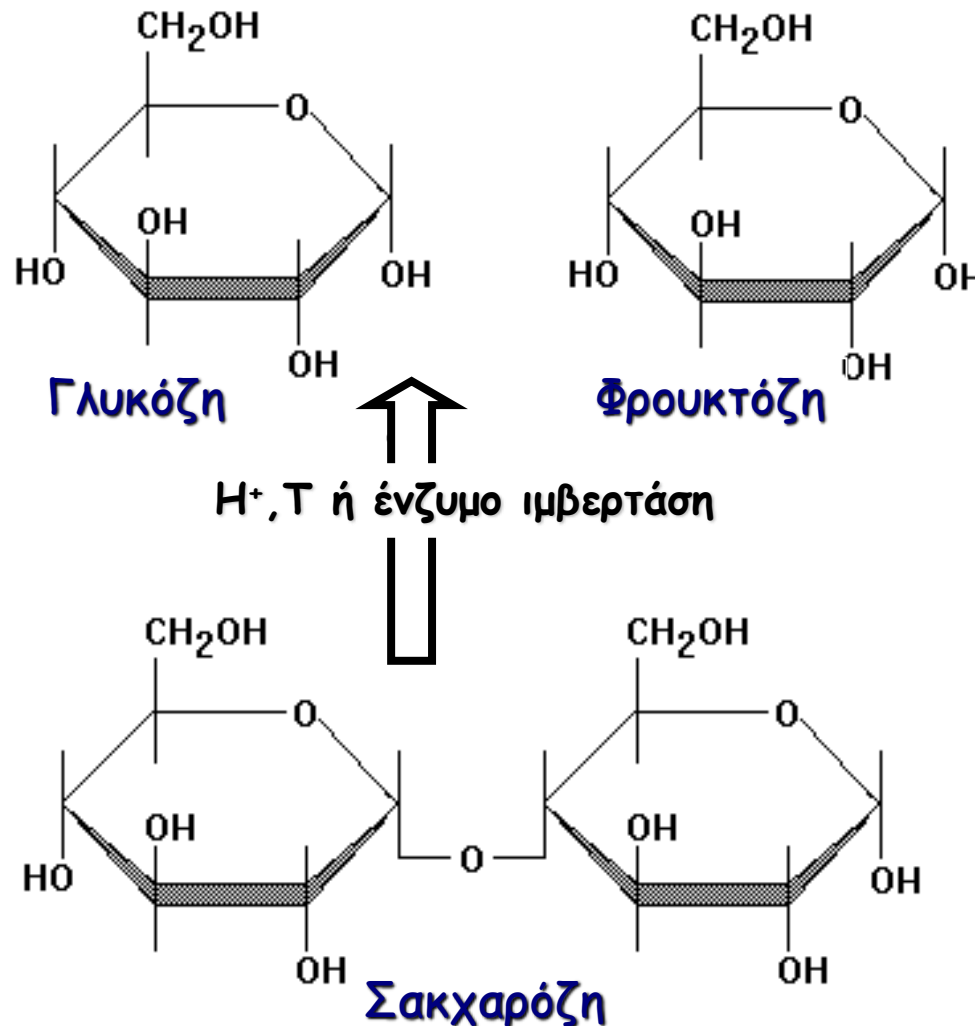
(*)Φρουκτόζη
(σιρόπι φρουκτόζης)

β-αμυλάση &
ισοαμυλάση

Μαλτόζη & δεξτρίνες

Μαλτόζη
(σιρόπι μαλτόζης)

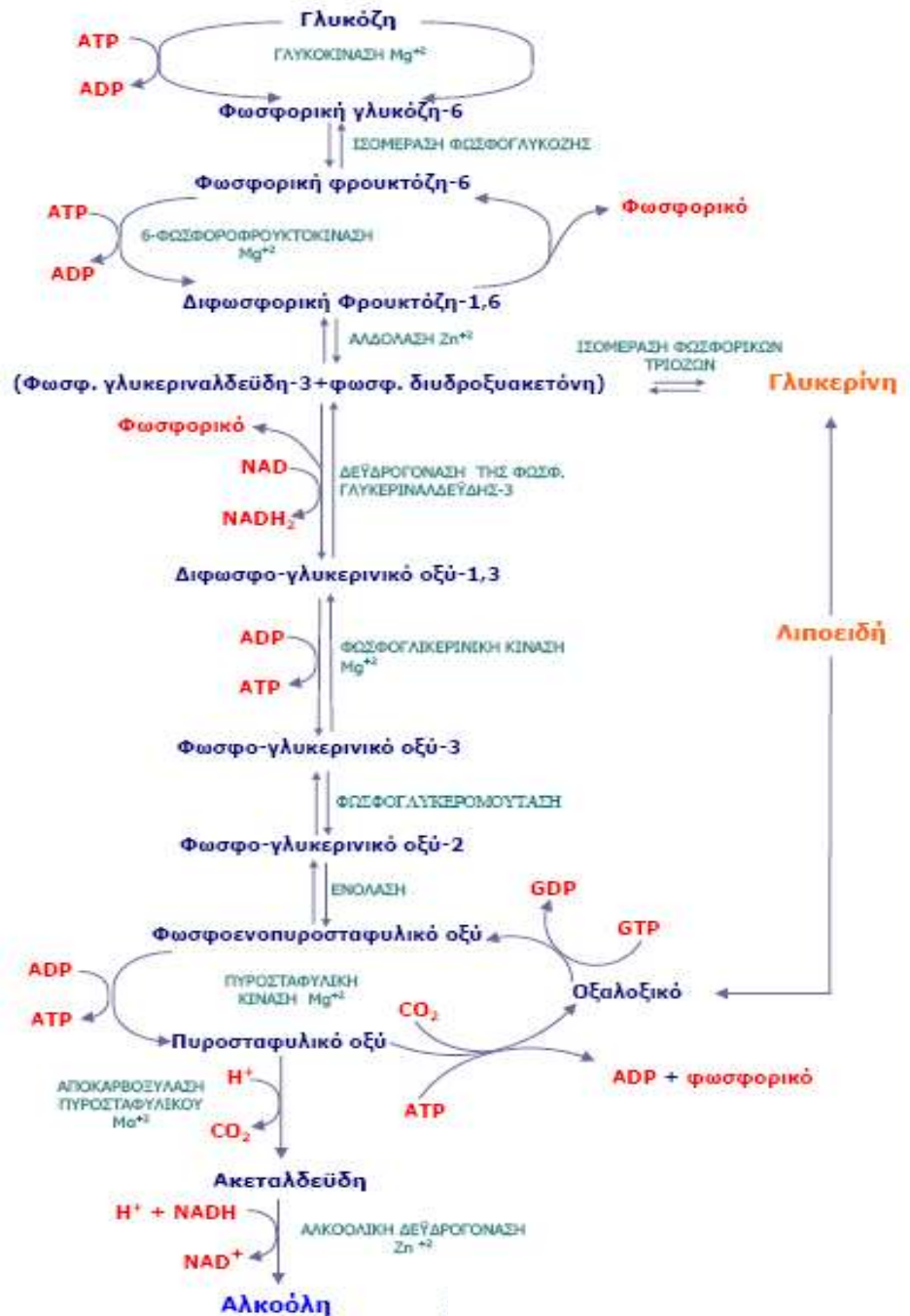
Σακχαρόζη (ζάχαρη)



Αλκοολική ζύμωση

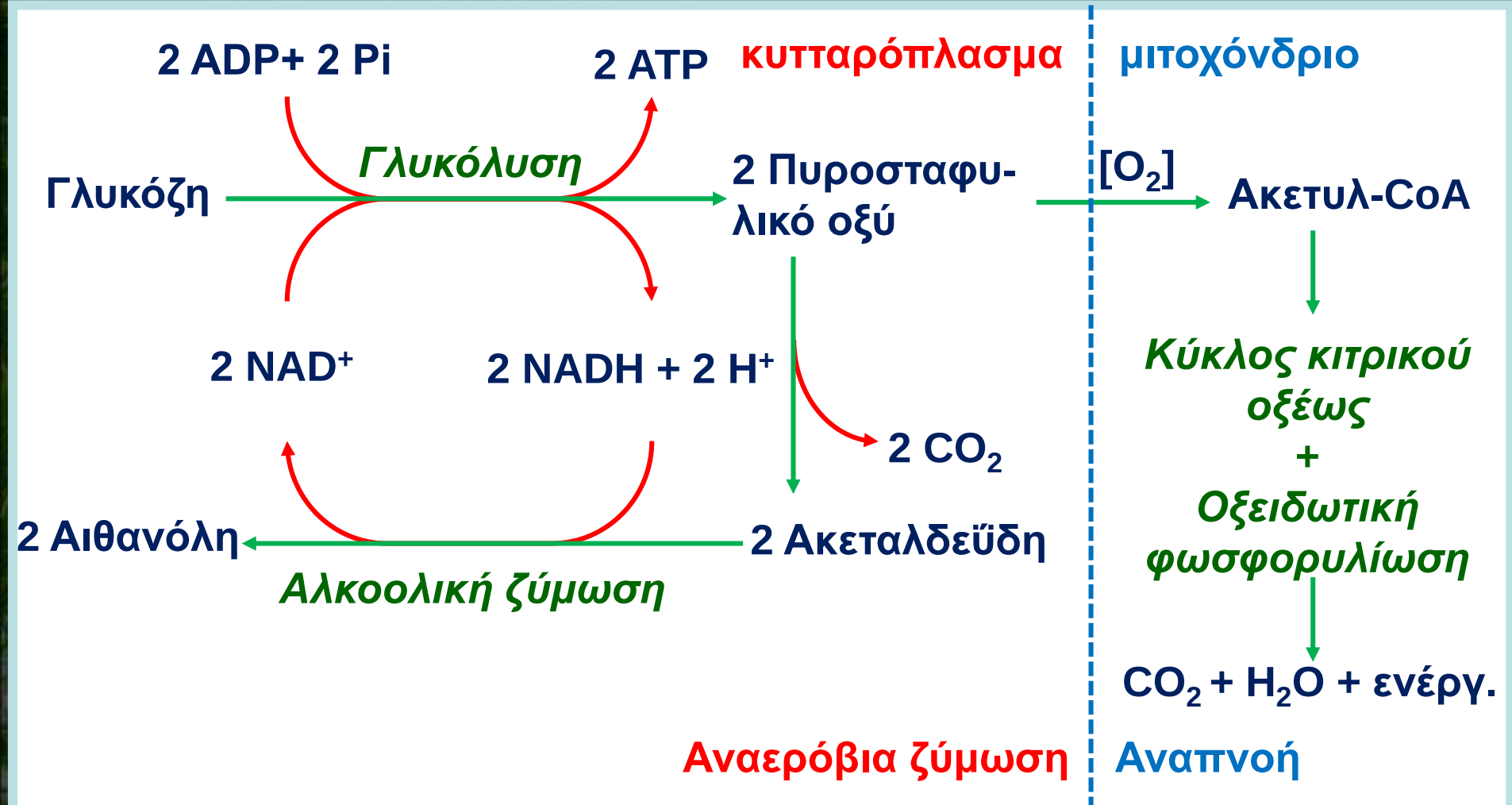
Γλυκόλυση-αλκοολική ζύμωση

- Η γλυκόλυση και η αλκοολική ζύμωση είναι αναερόβιες διεργασίες
- Η συνηθισμένη πορεία μεταβολισμού της γλυκόζης: μετατροπή σε πυροσταφυλικό οξύ & στη συνέχεια σε CO_2 και H_2O μέσω του κύκλου του Krebs
- Οι **ζυμομύκητες** και ορισμένοι άλλοι μικροοργανισμοί μετατρέπουν το πυροσταφυλικό οξύ σε αλκοόλη



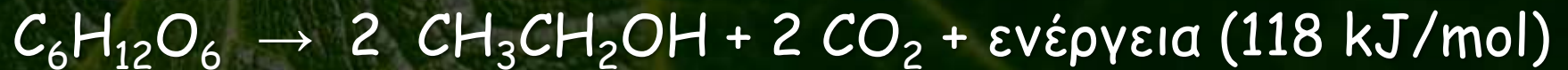
Αλκοολική ζύμωση

Σύνοψη της αλκοολικής ζύμωσης



Αλκοολική ζύμωση

χημική εξίσωση και απόδοση αλκοολικής ζύμωσης:



Απόδοση:

Από 1 g σακχάρου η θεωρητική απόδοση είναι:
0,51 g αιθανόλης & 0,49 g CO_2

Η πρακτική απόδοση είναι:
0,46 g αιθανόλης & 0,44 g CO_2

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Τα προϊόντα ζύμωσης περιέχουν:

- Παραπροϊόντα του μηχανισμού αλκοολικής ζύμωσης & μεταβολισμού των ζυμομυκήτων
- Παραπροϊόντα χημικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των προϊόντων ζύμωσης & συστατικών της πρώτης ύλης
 - ✓ Π.χ. στη μπύρα πάνω από 600 πτητικά συστατικά παράγονται κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης (RUSSEL και STEWART, 1992).
- Επίδραση ασκεί η θερμοκρασία, το pH της ζύμωσης και η σύσταση της ζυμώμενης ύλης

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Τα κυριότερα πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά & παραπροϊόντα της αλκοολικής ζύμωσης είναι:

- μεθανόλη
- αλδεΐδες (ακεταλδεΐδη)
- ανώτερες αλκοόλες
- δικετόνες
[διακετύλιο (2,3-βουτανοδιόνη)
& 2,3-πεντανοδιόνη]
- εστέρες
- οξέα
- γλυκερόλη
- θειούχες ενώσεις
- ακετάλες

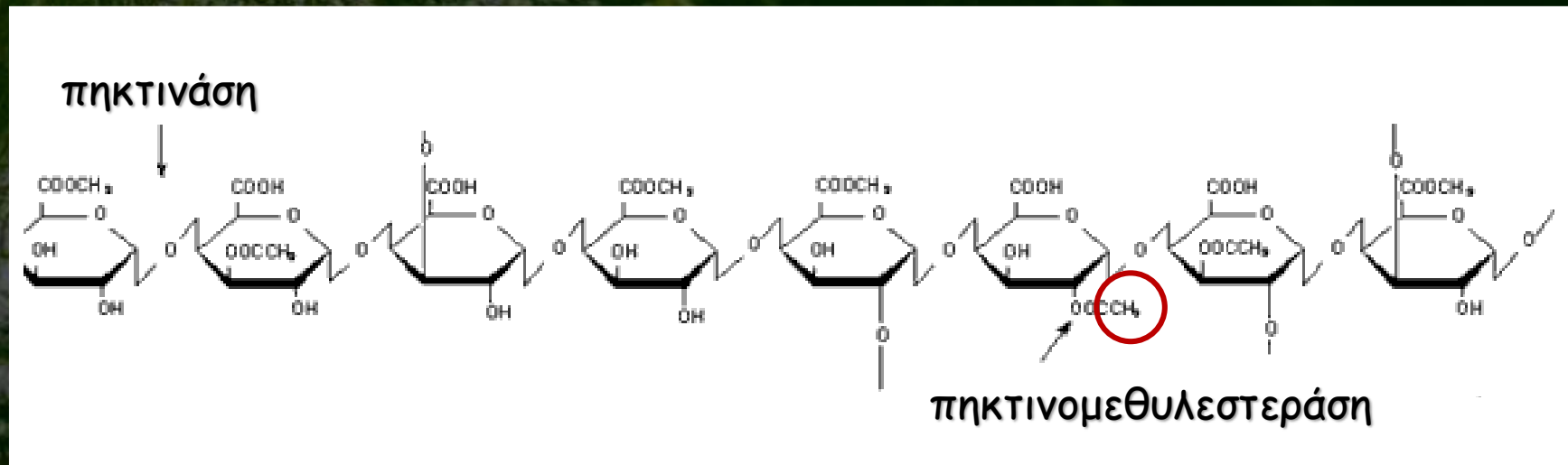
Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Μεθανόλη - CH_3OH

Προέλευση:

- πρώτη ύλη

Υδρόλυση πηκτινικών υλών (πολυμερή α-γαλακτουρονικού οξέως + μεθυλεστέρων του) με τη δράση του ενζύμου πηκτινομεθυλεστεράση (PME)



- Αναερόβιος μεταβολισμός ορισμένων βακτηρίων

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Μεθανόλη

Ιδιότητες

- Είναι ουσία τοξική που προκαλεί τύφλωση (10 mL προκαλούν πλήρη τύφλωση με καταστροφή του οπτικού νεύρου και 30 mL είναι θανατηφόρα)
- Η τοξική δράση της οφείλεται στη μετατροπή της σε φορμαλδεΰδη με την αντίδραση:



*Οξειδάση της
Μεθανόλης*

Καταλάση

- Ο προσδιορισμός της γίνεται με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας FID

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

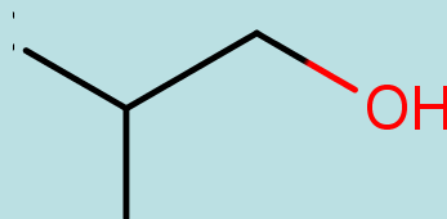
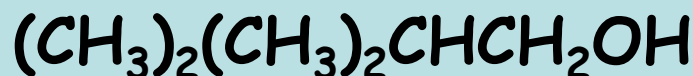
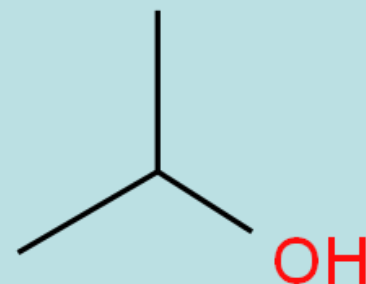
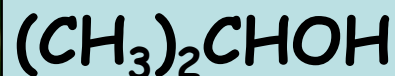
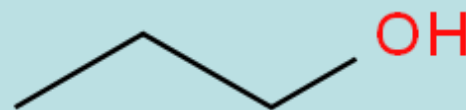
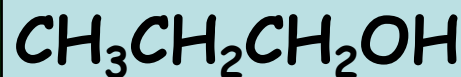
Μεθανόλη (CH_3OH)

- παράγεται αμέσως μετά τη θραύση των σταφυλιών (επαφή ΡΜΕ με τις πηκτίνες του μούστου)
- περιεκτικότητα στα κρασιά ~ **50 mg/l** στα λευκά και ~**200 mg/l** στα κόκκινα. Σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από **500 mg/l** θεωρείται τοξική
- δεν βρίσκεται σε προϊόντα ζύμωσης μελάσας
- η συγκέντρωση της έχει σημασία για την παραγωγή καλής ποιότητας αποσταγμάτων από κρασί

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Ανώτερες αλκοόλες (ζυμέλαια)

- **προπυλική αλκοόλη**
(1-προπανόλη)
- **ισοπροπυλική αλκοόλη**
(2-προπανόλη)
- **ισοβουτυλική αλκοόλη**
(2-μέθυλο-1-προπανόλη)



Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

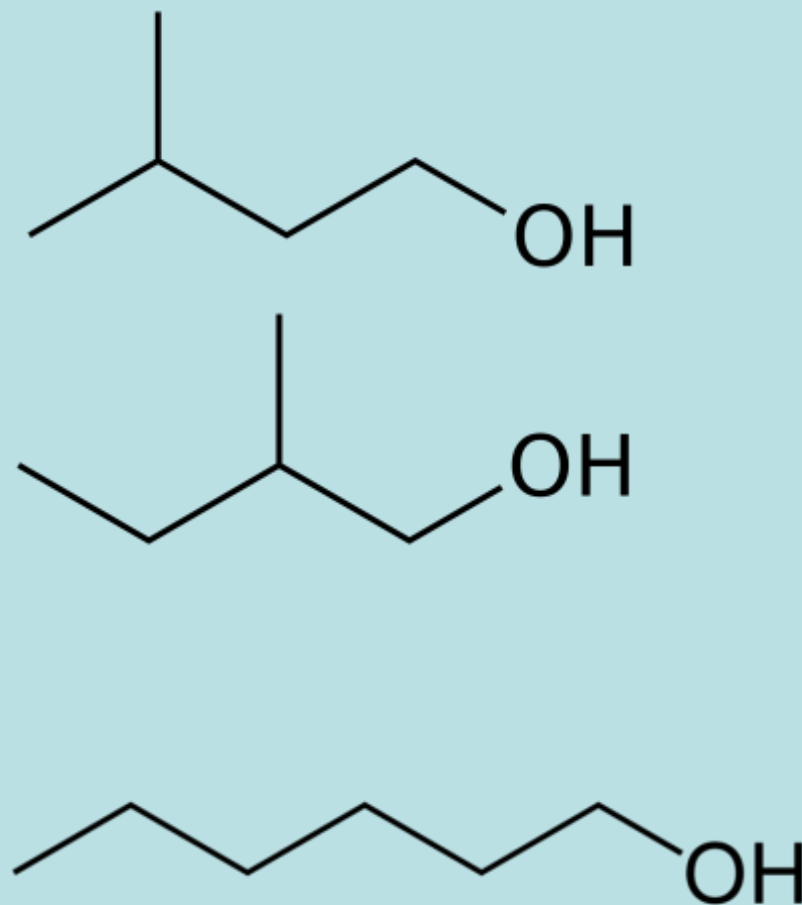
Ανώτερες αλκοόλες (ζυμέλαια)

- **αμυλικές αλκοόλες**

- ✓ **ισοαμυλική αλκοόλη**
(3-μέθυλο-βουτανόλη-1)
 $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$

- ✓ **αμυλική αλκοόλη**
(2-μέθυλο-βουτανόλη-1)
 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{OH}$

- **εξανόλη-1**

 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 

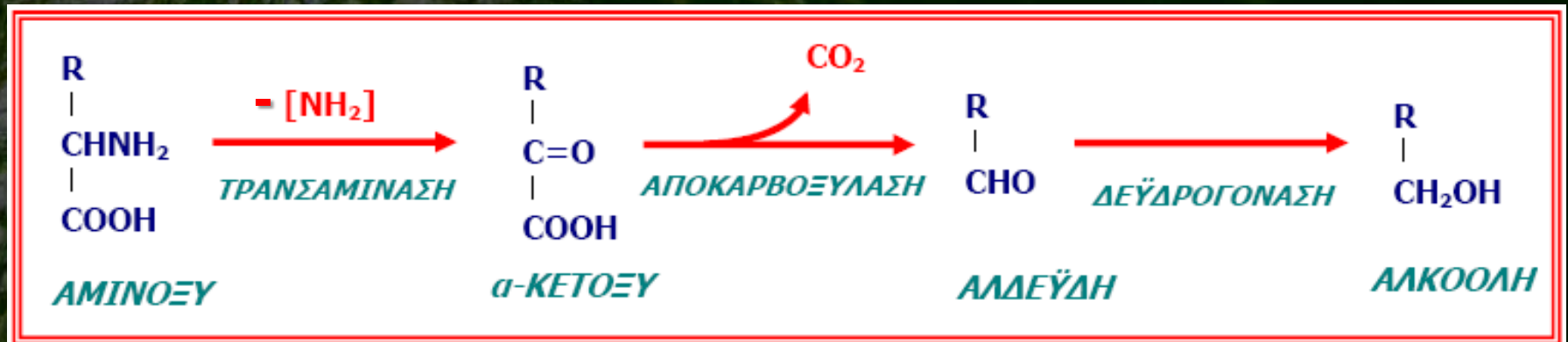
Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Ανώτερες αλκοόλες

Προέλευση:

αναγωγή των αντίστοιχων αλδεϋδών που προέρχονται συνήθως από την **απαμίνωση των αμινοξέων** που προκύπτουν από την διάσπαση των πρωτεϊνών της ζύμης & του γλεύκους.

Γενικός μηχανισμός:



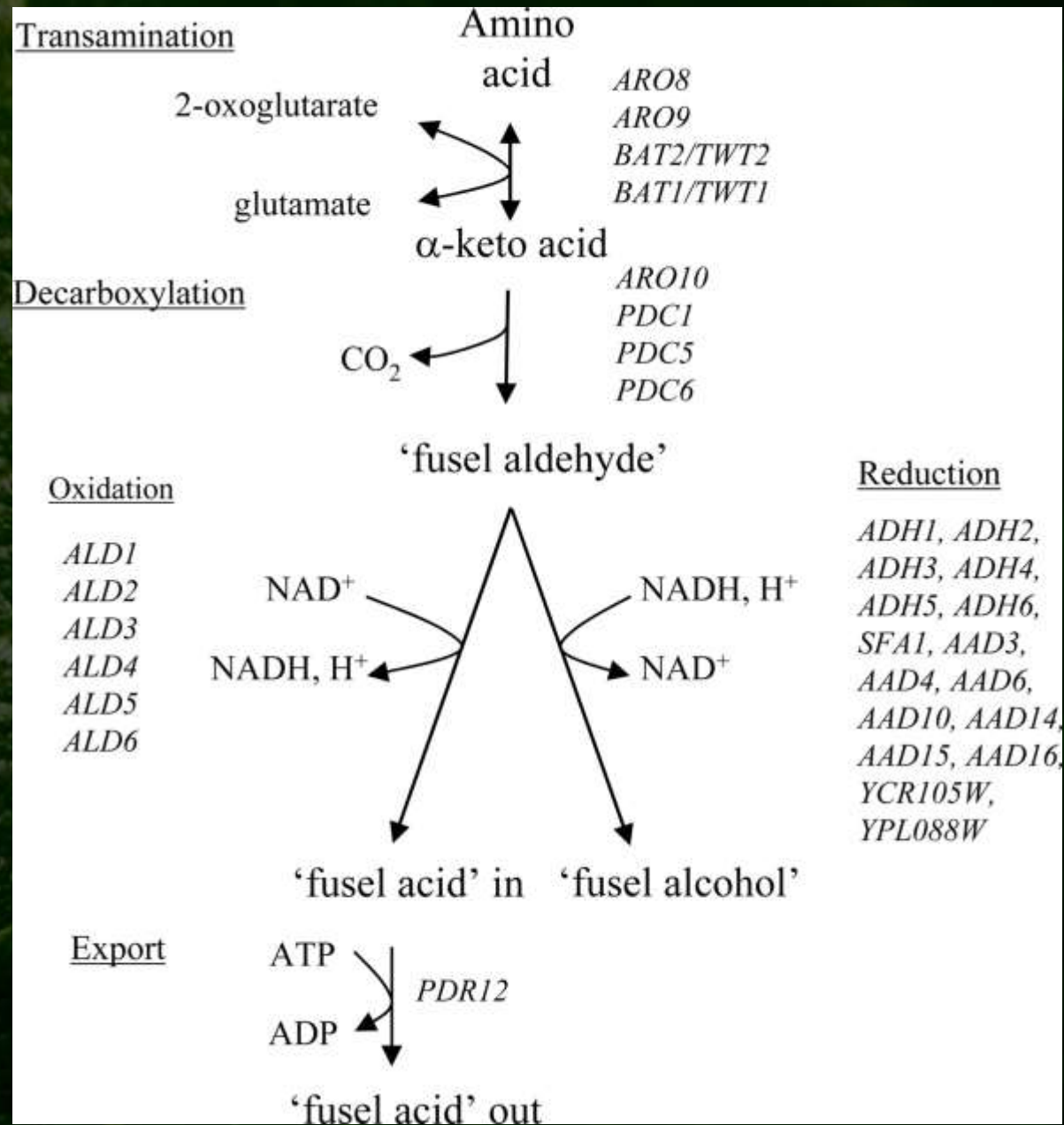
Προέλευση ανώτερων αλκοολών

©The Ehrlich Pathway for Fusel
Alcohol Production: a Century of
Research on *Saccharomyces*
cerevisiae Metabolism

Lucie A. Hazelwood, Jean-Marc
Daran, Antonius J. A. van Maris, Jack
T. Pronk, J. Richard Dickinson

DOI: 10.1128/AEM.00934-08
American Society for Microbiology
Journals

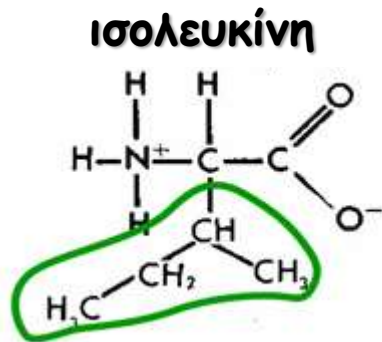
Published online June 12, 2008



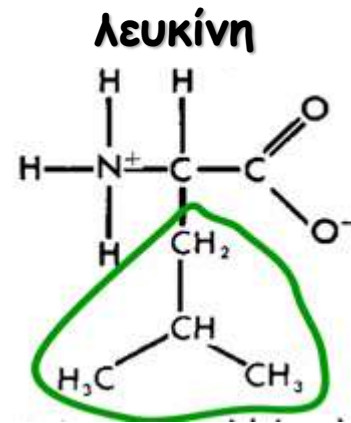
Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Ανώτερες αλκοόλες

Π.χ. αμυλικές αλκοόλες:



2-μέθυλο-βουτανόλη-1



3-μέθυλο-βουτανόλη-1

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Ανώτερες αλκοόλες

Οι συγκεντρώσεις τους επηρεάζονται από:

- Θερμοκρασία ζύμωσης (μειώνονται με τη μείωσή της)
- pH (αυξάνονται με τη μείωσή του)
- O_2 (αυξάνονται με την αύξησή του)
- είδος ζυμομύκητα (ο *Saccharomyces cerevisiae* παράγει περισσότερες από τον *S. carlsbergensis*)
- μειωμένος μεταβολισμός π.χ. λόγω απουσίας αφομοιώσιμων αζωτούχων ενώσεων

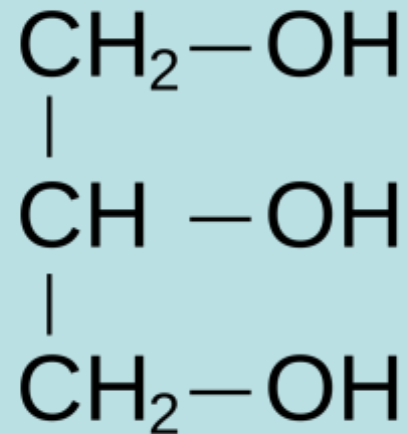
Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Ανώτερες αλκοόλες

- 80% των ανώτερων αλκοολών παράγονται κατά την πρωτογενή ζύμωση
- Οσμή (off-flavour)
 - "alcoholic"
 - "spicy"
 - "hot"
 - "solvent-like"

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης Γλυκερόλη

- προϊόν αλκοολικής ζύμωσης
(ενδιάμεσο στάδιο γλυκόλυσης)
 - προσδίδει γλυκιά γεύση και λιπαρή
υφή στο κρασί
 - ο σχηματισμός της ευνοείται από:
 - αύξηση θερμοκρασίας ζύμωσης
 - συγκέντρωση τρυγικού οξέος
 - pH (αύξηση με την αύξηση του)
 - συγκέντρωση σακχάρου και οσμωτικό στρες
 - πηγές αζώτου
 - προσθήκη SO₂
- (Scanes et al. S. Afr. J. Enol. Vitic., 19, 1, 1998)



Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

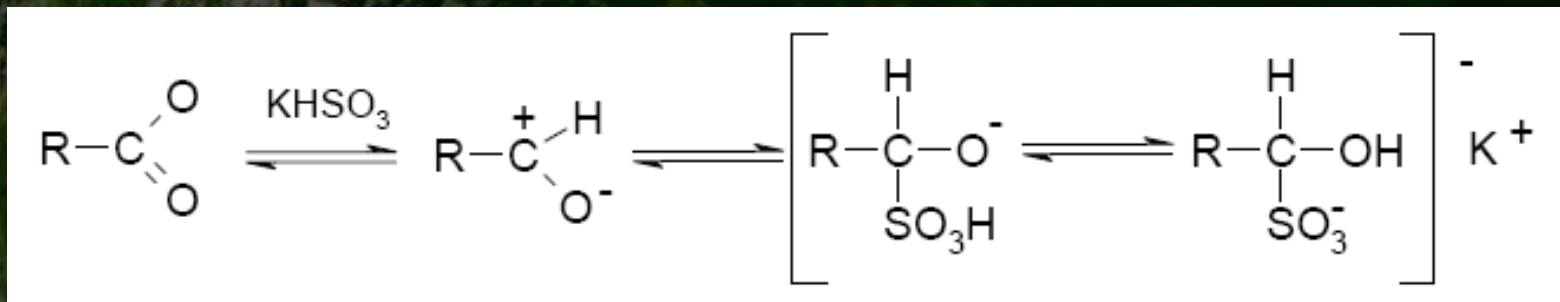
Γλυκερόλη

- συνήθεις συγκεντρώσεις στους οίνους:
 - **4-10 g/L** στους ξηρούς οίνους
 - έως και **20 g/L** σε ειδικούς τύπους ή λόγω προσβολής από *Botrytis cinerea*

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Ακεταλδεΐδη

- προϊόν αλκοολικής ζύμωσης (ενδιάμεσο στάδιο γλυκόλυσης)
- περιεκτικότητα στο κρασί ~ **75 mg/l**
- αύξηση με την παλαίωση λόγω οξείδωσης της αιθανόλης
- αύξηση με την προσθήκη HSO_3^- στο γλεύκος λόγω δέσμευσής της και μη μετατροπής της σε αιθανόλη:



Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Εστέρες

- από αργή αντίδραση ισορροπίας μεταξύ αλκοολών & οξέων, που συνυπάρχουν στο προϊόν, κατά την παραμονή του (**ωρίμανση**), ή
- προϊόντα του μεταβολισμού των λιπιδίων της ζύμης:

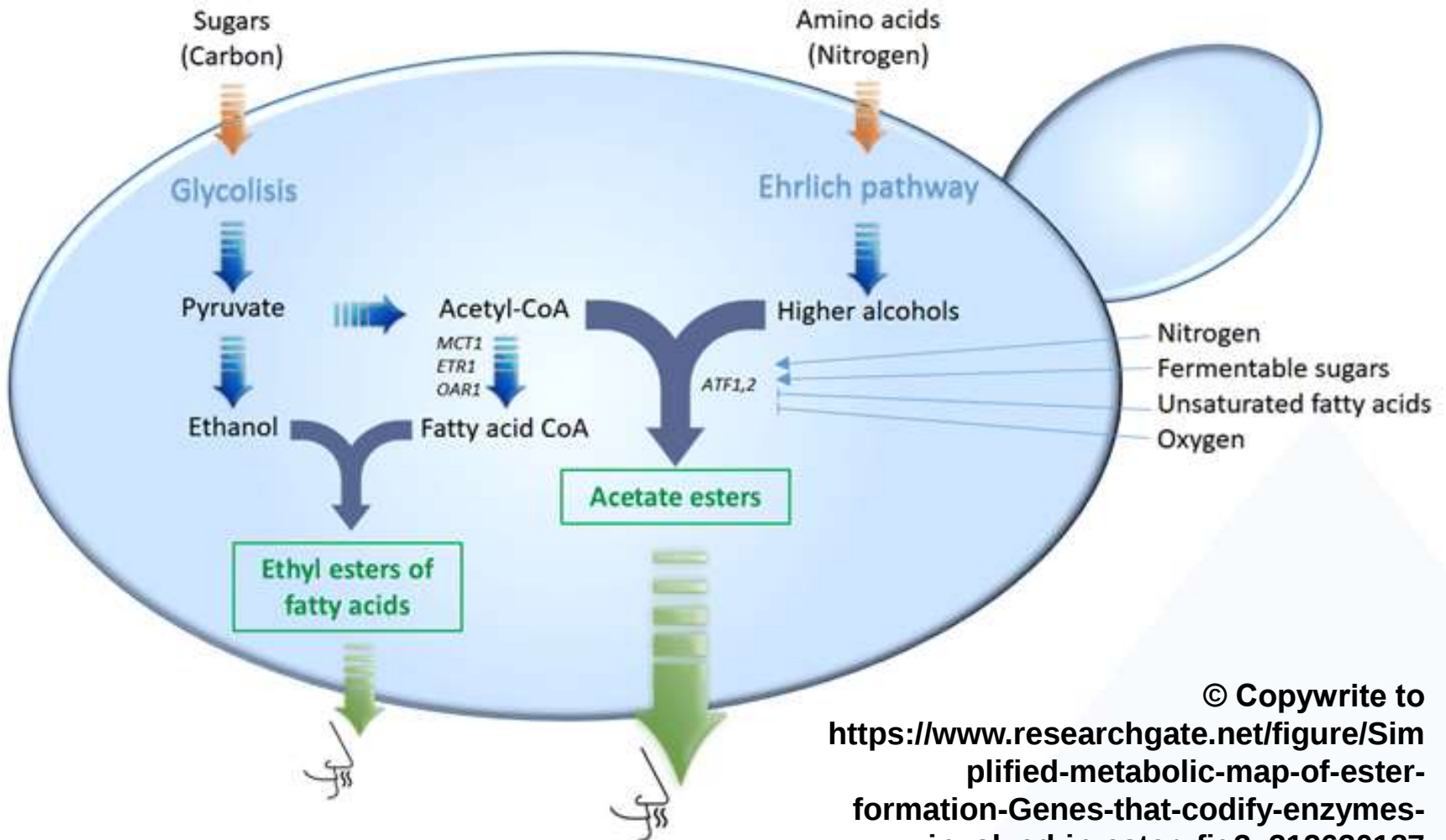


Γενικά:



Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Εστέρες



© Copywrite to
https://www.researchgate.net/figure/Simplified-metabolic-map-of-ester-formation-Genes-that-codify-enzymes-involved-in-ester_fig3_312630187

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

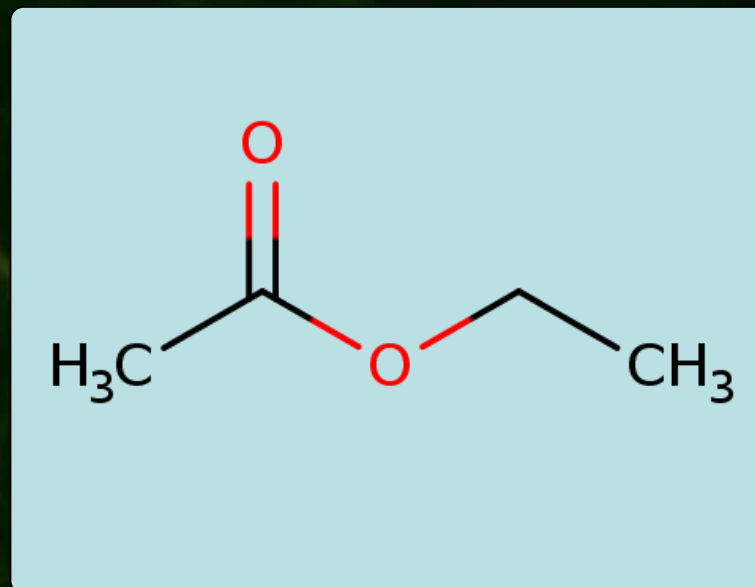
Εστέρες

- Ο σακχαρομύκητας *Saccharomyces cerevisiae* παράγει συνήθως μεγάλες ποσότητες εστέρων, η συγκέντρωση των οποίων εξαρτάται από το στέλεχος της ζύμης, τη θερμοκρασία & το pH, π.χ. αυξάνεται με:
 - ✓ τη μείωση της θερμοκρασίας
 - ✓ τη μεγάλη αρχική ποσότητα σακχάρου
 - ✓ τη μικρή συγκέντρωση οξυγόνου
- χαρακτηριστικό "φρουτώδεις" άρωμα ή άρωμα "ανθέων"

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Εστέρες

- Κυριότερος εστέρας στους οίνους είναι ο **οξικός αιθυλεστέρας**
 $\text{CH}_3\text{—COO—CH}_2\text{—CH}_3$
($\leq 200 \text{ mg/l}$)



- άλλοι εστέρες:
 - ✓ **οξικός ισοαμυλεστέρας** (άρωμα μπανάνας)
 - ✓ **εξανοϊκός, οκτανοϊκός & δεκανοϊκός αιθυλεστέρας** (άρωμα μήλου ή γλυκάνισου)
- μεγάλες συγκεντρώσεις εστέρων συνοδεύονται συνήθως από αυξημένες συγκεντρώσεις οξικού οξέος

Οξέα στον οίνο

Πτητικά οξέα
(απόσταση με υδρατμούς: πτητική οξύτητα)

- Οξικό CH_3COOH
- Γαλακτικό $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$
- Μυρμηκικό HCOOH
- Προπανικό $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$
- Βουτανοϊκό $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$

Οξέα στον οίνο

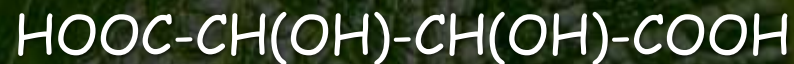
Οξικό οξύ

- Προέρχεται από:
 - ✓ οξείδωση ακατελδεΰδης
 - ✓ οξείδωση αιθανόλης (O_2 + αλκοολοξειδάση + οξικά βακτήρια)
- Έχει ξινή γεύση & δυσάρεστη οσμή
(> **2 g/l**, ο οίνος είναι ακατάλληλος και δεν θεραπεύεται)
- Η πτητική οξύτητα εκφράζεται ως «**g/l οξικού οξέος**»

Οξέα στον οίνο

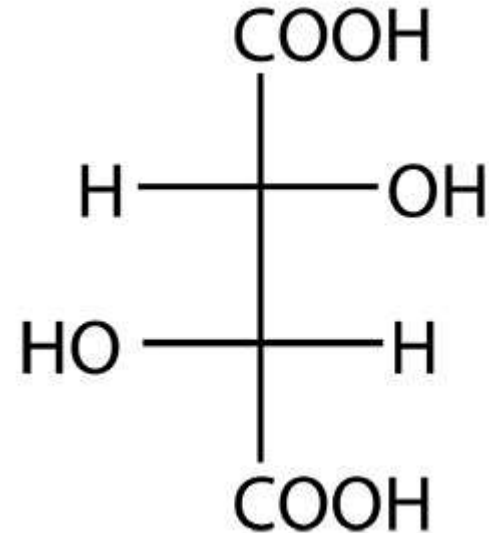
Μη Πτητικά οξέα
(δεν αποσπάζουν με υδρατμούς)

- **τρυγικό**



φυσικό ισομερές:

L-(+)- ή (2S,3S)-τρυγικό οξύ



Οξέα στον οίνο

● Τρυγικό

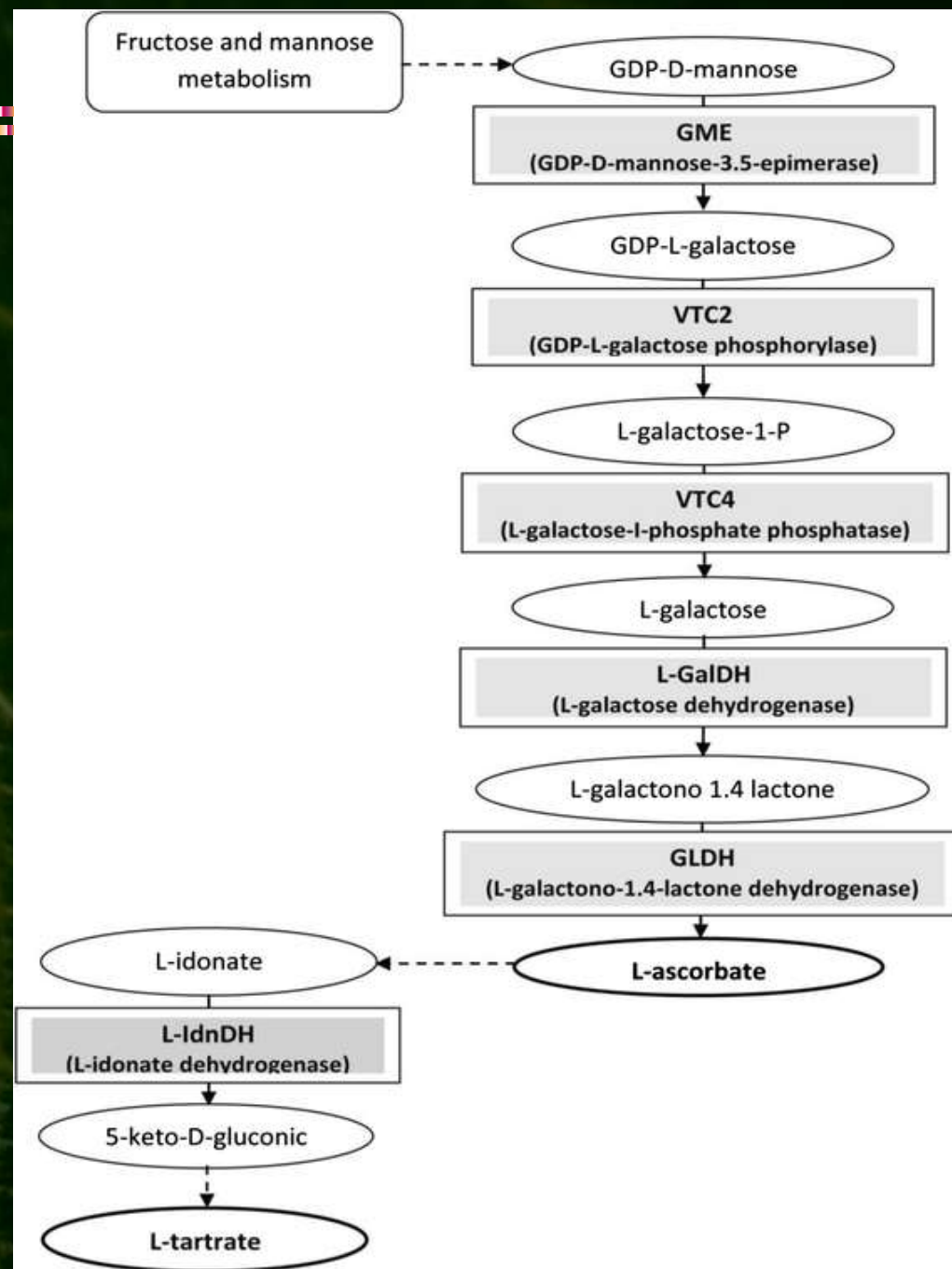
Βιοσύνθεση από
L-ασκορβικό οξύ

Tartaric acid pathways in Vitis vinifera
L. (cv. Ugni blanc): a comparative
study of two vintages with contrasted
climatic conditions

Cholet et al., 2016.

BMC Plant Biology 16(1):1

DOI: 10.1186/s12870-016-0833-1



Οξέα στον οίνο

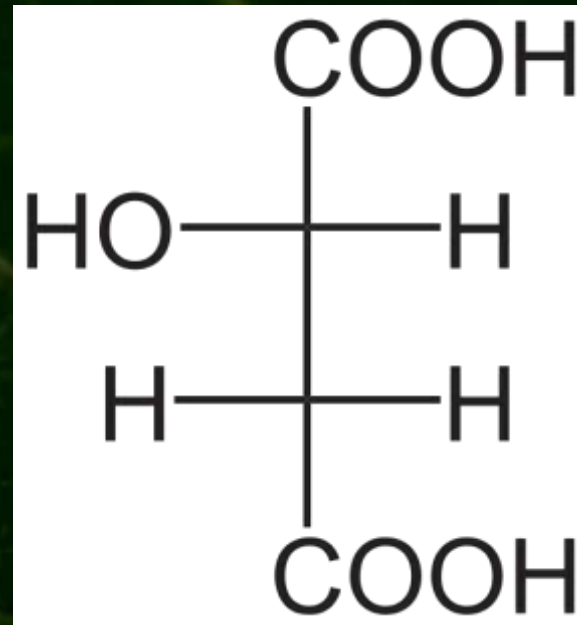
Μη Πτητικά οξέα
(δεν αποσπάζουν με υδρατμούς)

- **μηλικό**

$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{COOH}$

φυσικό ισομερές:

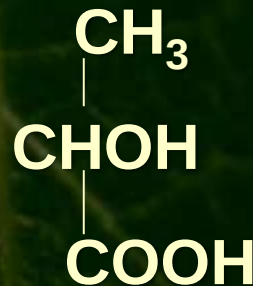
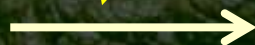
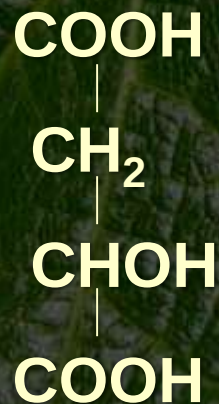
L-μηλικό οξύ



Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Οξέα - Μη Πτητικά οξέα

Μηλικό οξύ - Μηλογαλακτική ζύμωση



Γαλακτικά
βακτήρια:
Oenococcus
Pediococcus
Lactobacillus
Leuconostoc

Μηλικό οξύ

Δικαρβοξυλικό οξύ

2 διαθέσιμα H^+

για διάσπαση

Γαλακτικό οξύ

Μονοκαρβοξυλικό οξύ

1 διαθέσιμο H^+ για διάσπαση

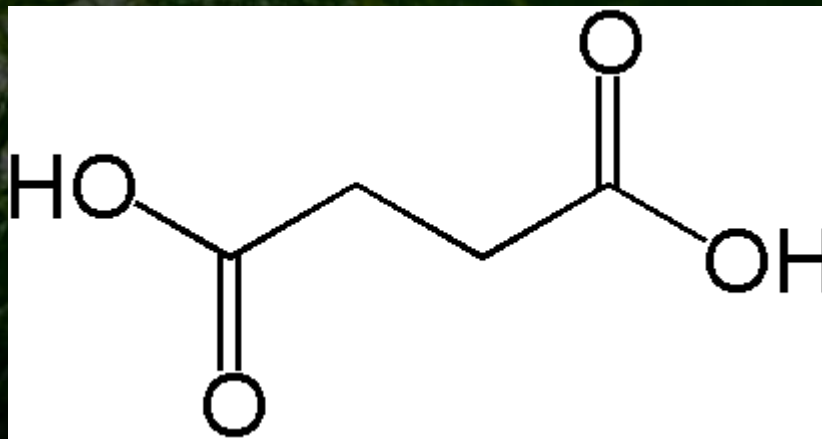
(βελτίωση οργανοληπτικού χαρακτήρα
οίνου, ειδικά εμφιαλωμένου)

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Οξέα

Μη Πτητικά οξέα
(δεν αποσπάζουν με υδρατμούς)

- Ηλεκτρικό $\text{HOOC-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$



Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Οξέα

Μη Πτητικά οξέα

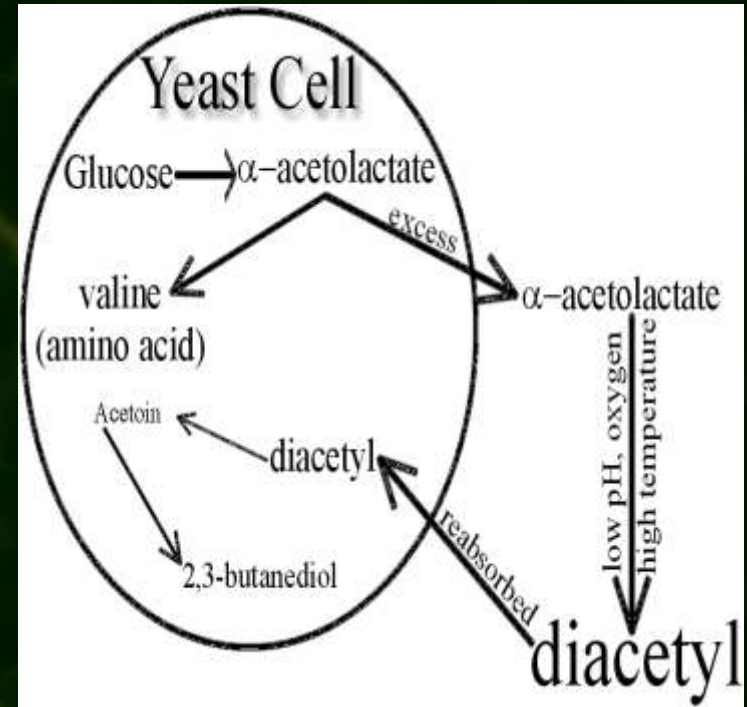
- παρεμποδίζουν την ανάπτυξη βακτηρίων
- διόρθωση οξύτητας στο γλεύκος (**6-8 g/l τρυγικού**) για καλή συντήρηση του κρασιού χωρίς να αλλοιώνεται ο οργανοληπτικός του χαρακτήρας

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Δικετόνες

Δικετύλιο & 2,3-πεντανοδιόνη

- Παράγονται από το μεταβολισμό της ζύμης
- Ανάγονται αργά προς τις αντίστοιχες αλκοόλες πάλι από τη ζύμη



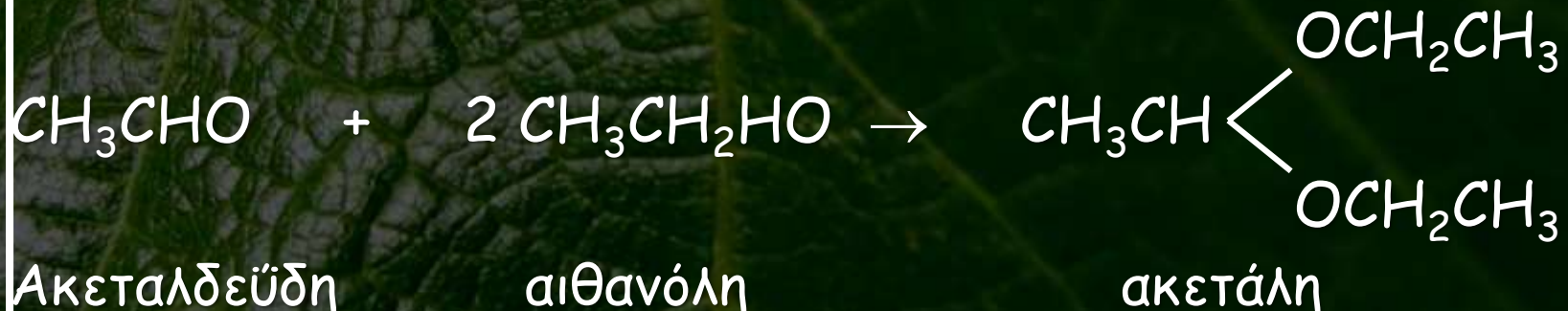
Κατώφλι αντίληψης
(threshold): 0.10-0.15 mg/L

Ανώτατο επιθυμητό όριο στις
μπύρες: 1 mg/L

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Ακετάλες, $R_2C(OR')_2$

- σχηματίζονται με την παλαίωση και αποτελούν δείκτες αυτής
- βραδεία αντίδραση ακεταλδεΐδης και αλκοόλης:



- στους οίνους: $\sim 5 \text{ mg/l}$

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

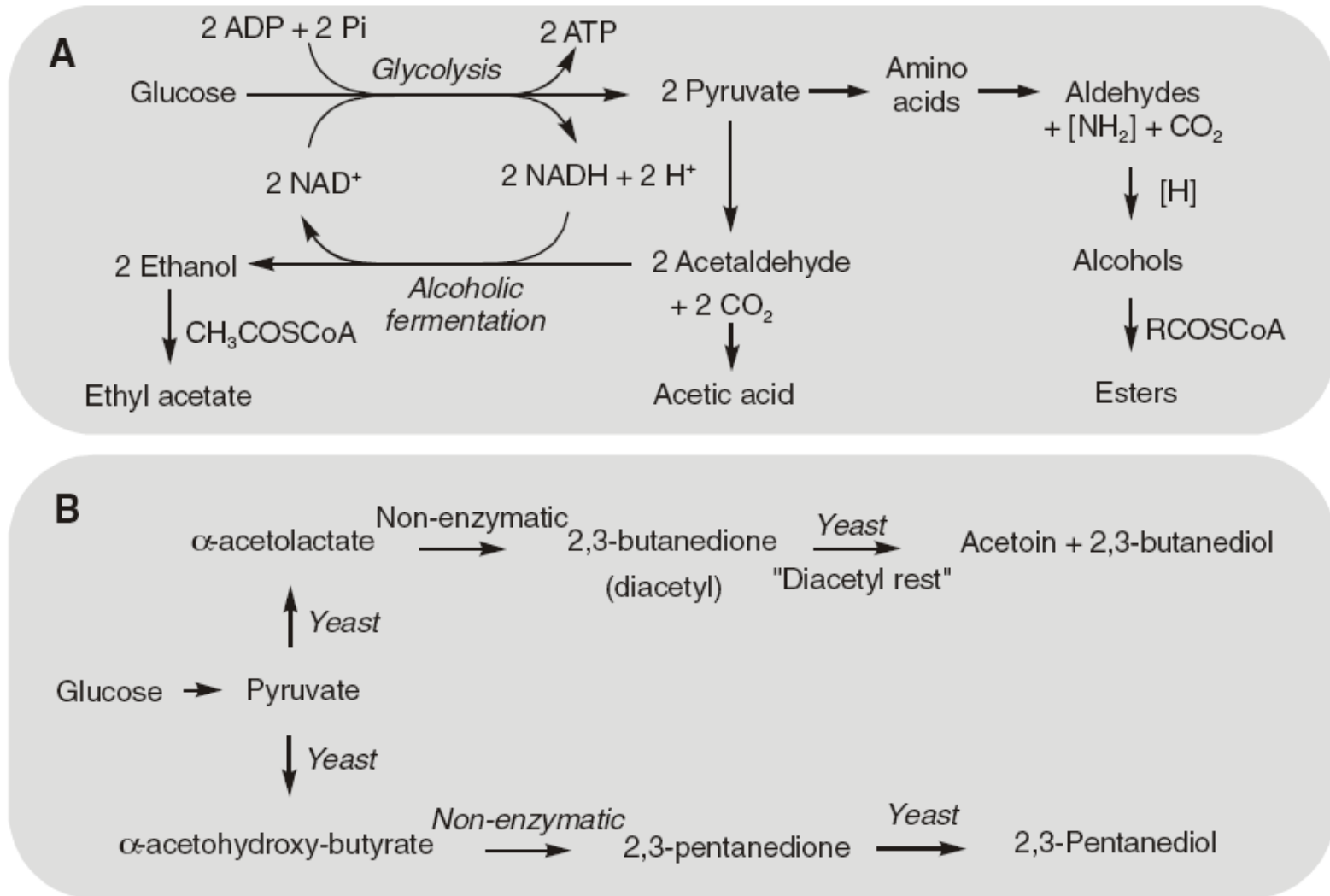


Fig. 2. Pathways involved in the formation and metabolism of the major volatiles during alcoholic fermentation: alcohols, aldehydes and esters (A) and vicinal diketones (B).

Koutinas, Kanellaki and Bekatorou*. "Extremely low temperature fermentations in food production". In: *Comprehensive Food Fermentation and Biotechnology*. Eds. Pandey, Larroche, Soccol, Gnansounou, Nigam. Asiatech Publishers, Inc., New Delhi, 2010.

Προτεινομένη βιβλιογραφία

1. Ronald Jackson. Wine Science. 5th Ed. Principles and Applications. Academic Press, 2020.

(υπάρχει παλαιότερη έκδοση διαθέσιμη στο διαδίκτυο – συνιστάται!)

2. I. Plioni, A. Bekatorou*, A. Mallouchos, P. Kandyli, A. Chiou, E.A. Panagopoulou, V. Dede, P. Styliara. Corinthian currants finishing side-stream: Chemical characterization, volatiles, and valorisation through wine and baker's yeast production-technoeconomic evaluation. Food Chemistry, 2020, In Press.

3. A. Bekatorou. Alcohol: Properties and Determination. Encyclopedia of Food and Health, 2016, pp. 88-96.

Ευχαριστώ !