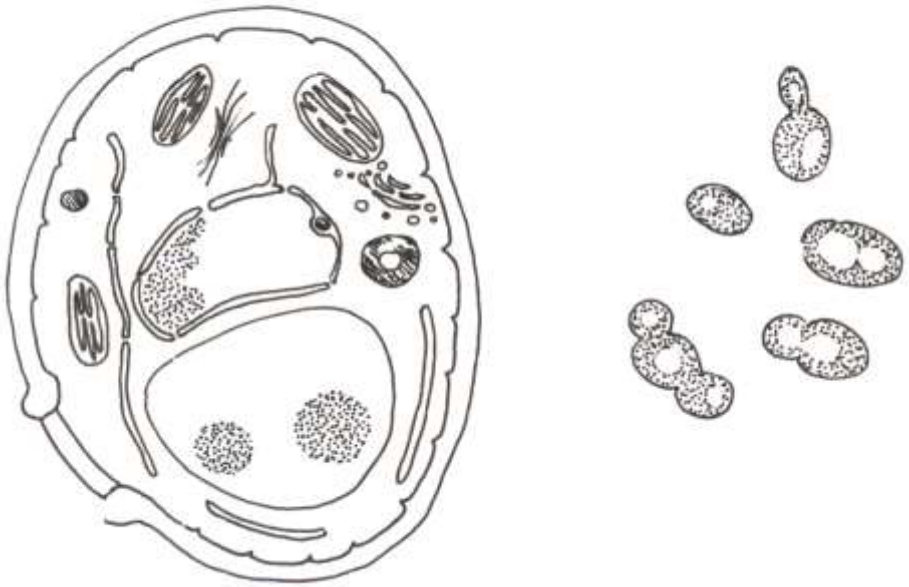
ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΖΥΜΩΣΗ

ΠΑΡΑΠΡΟΪΟΝΤΑ – ΠΤΗΤΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΑΛΚΟΟΛΟΥΧΩΝ ΠΟΤΩΝ



ΑΡΓΥΡΩ ΜΠΕΚΑΤΩΡΟΥ, PhD

ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΧΗΜΕΙΑΣ, ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΠΑΤΡΩΝ

ΠΑΤΡΑ 2025

Αλκοολική ζύμωση

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

Ειδικότερα:

Ζύμωση

Μετατροπή υδατανθράκων (σακχάρων) υπό αναερόβιες συνθήκες

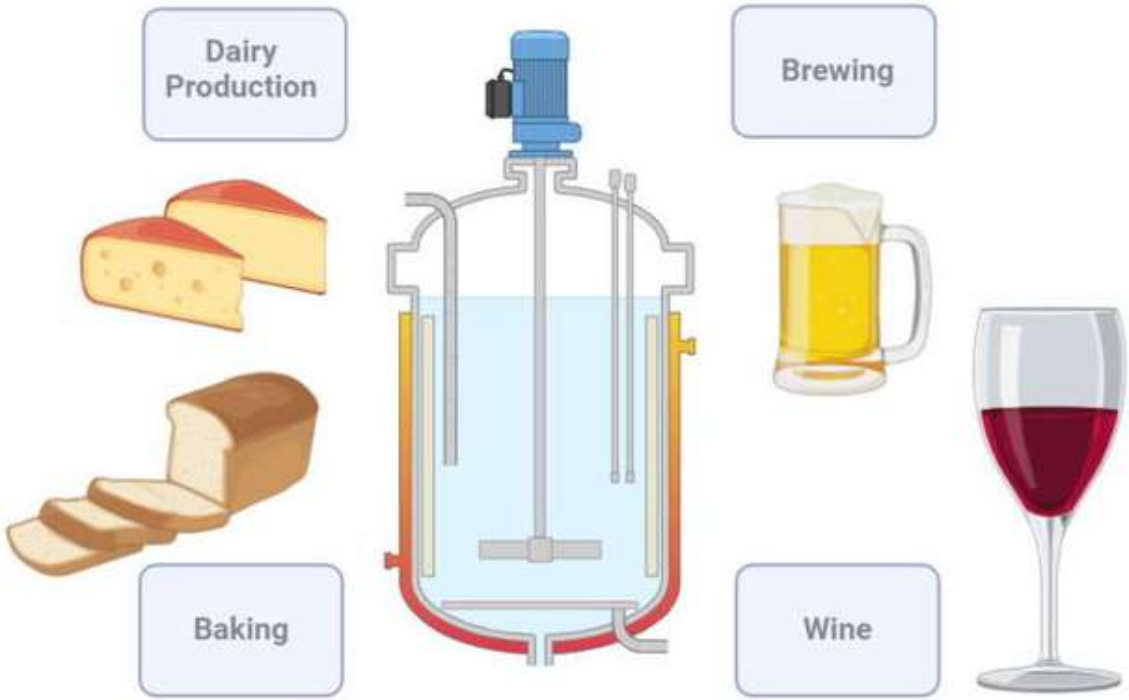
Αλκοολική ζύμωση

μετατροπή υδατανθράκων σε αλκοόλη και CO_2

Αλκοολική ζύμωση

Εφαρμογές – σημασία για την τεχνολογία τροφίμων

- Παραγωγή αλκοολούχων ποτών (κρασί, μπύρα, αποστάγματα).
- Παραγωγή οινοπνεύματος πόσιμου, (βιο)καυσίμου, φαρμακευτικού.
- Παραγωγή οξικού οξέος και ξυδιού.
- Διόγκωση ψωμιού και προϊόντων αρτοποιίας.
- Καλύτερη συντήρηση των τροφίμων.



- Μεγαλύτερη θρεπτική αξία των τροφίμων που παράγονται ή μετατρέπονται με ζύμωση (π.χ. αποικοδόμηση πολύπλοκων ενώσεων σε πιο αξιοποιήσιμες, απελευθέρωση συστατικών από μη αφομοιώσιμα υλικά, όπως οι φυτικοί ιστοί με διάσπαση της κυτταρίνης, σύνθεση βιταμινών κ.α. 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

Αλκοολική ζύμωση

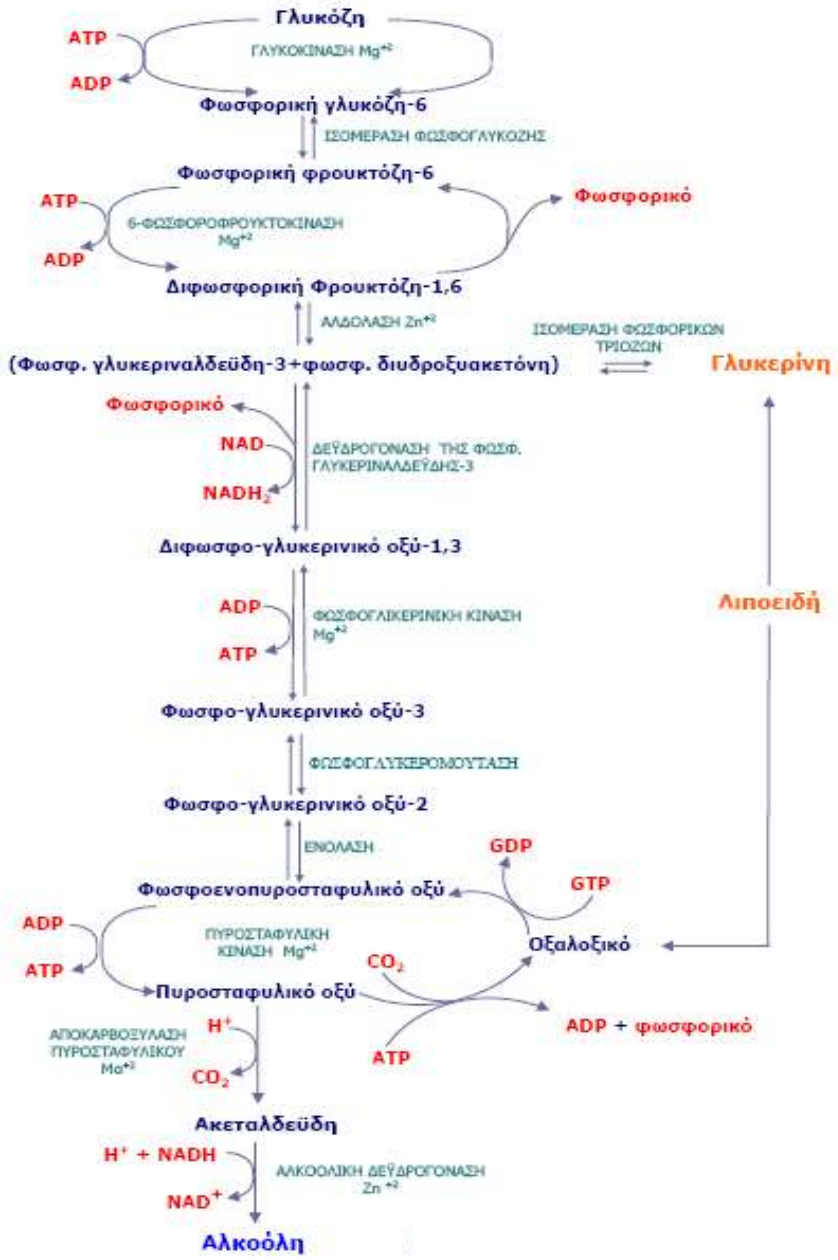
- Πραγματοποιείται μέσω του μηχανιμού της γλυκόλυσης (Embden-Meyerhof-Parnas), δηλαδή της μετατροπής των εξοζών σε πυροσταφυλικό οξύ (*pyruvate*).

- **Γλυκολυτική οδός:** κύρια πηγή ενέργειας στους ζωντανούς οργανισμούς

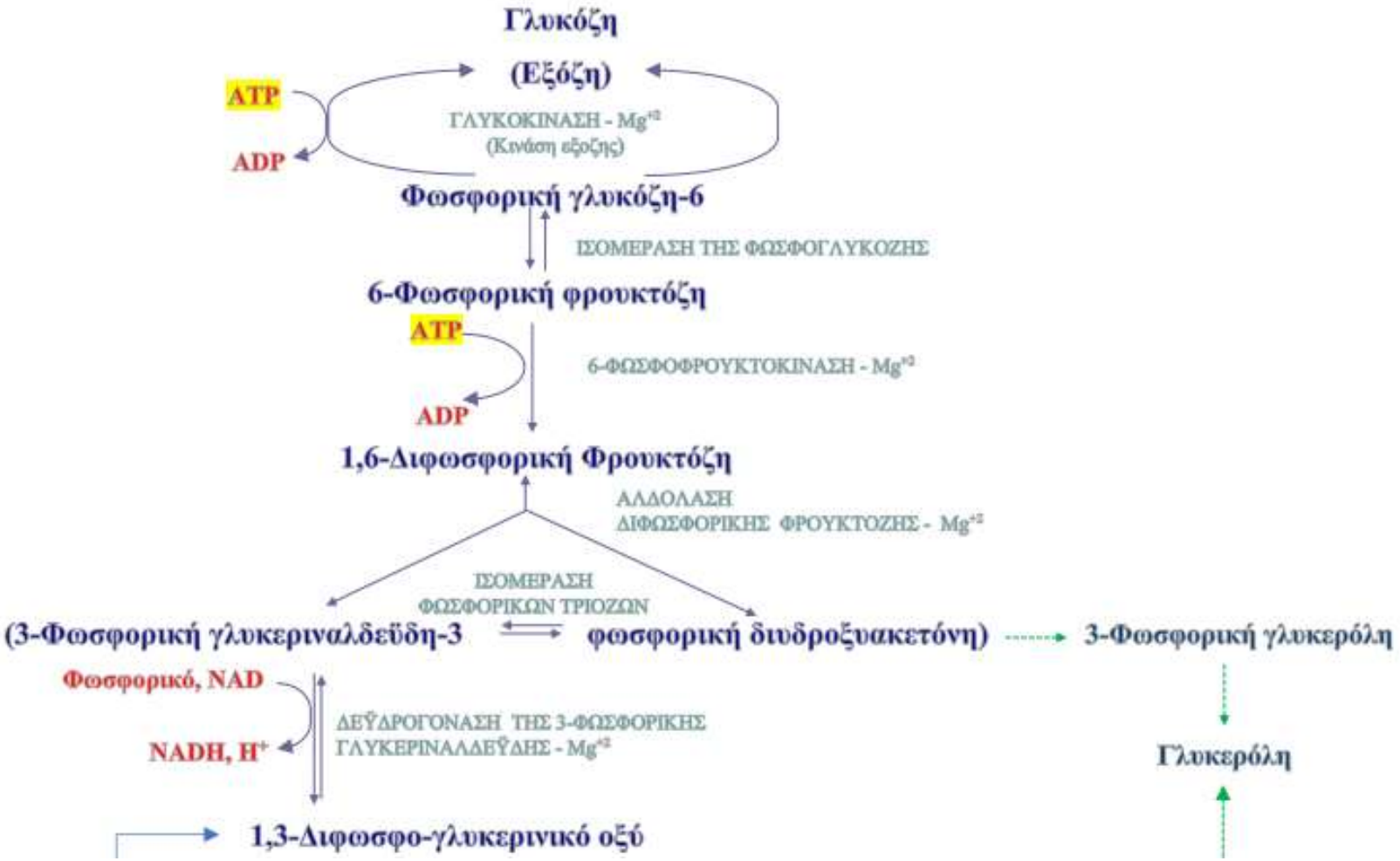
- Υπό αναερόβιες συνθήκες και υψηλή συγκέντρωση σακχάρου, το πυροσταφυλικό αποκαρβοξυλιώνεται με το ένζυμο «*αποκαρβοξυλάση του πυροσταφυλικού οξεως*», με θειαμίνη ως συνένζυμο, προς ακεταλδεΰδη και CO_2.

- Η **ακεταλδεΰδη** δρα ως δέκτης e^- οξειδώνοντας το NADH σχηματίζοντας αιθανόλη (με το ένζυμο «*αλκοολική δεϋδρογονάση*») αναγεννώντας το NAD, και επιτρέποντας τη σύνθεση του ATP να προχωρήσει υπό τις συνθήκες αυτές (Σχήμα →).

Γλυκόλυση & Αλκοολική ζύμωση

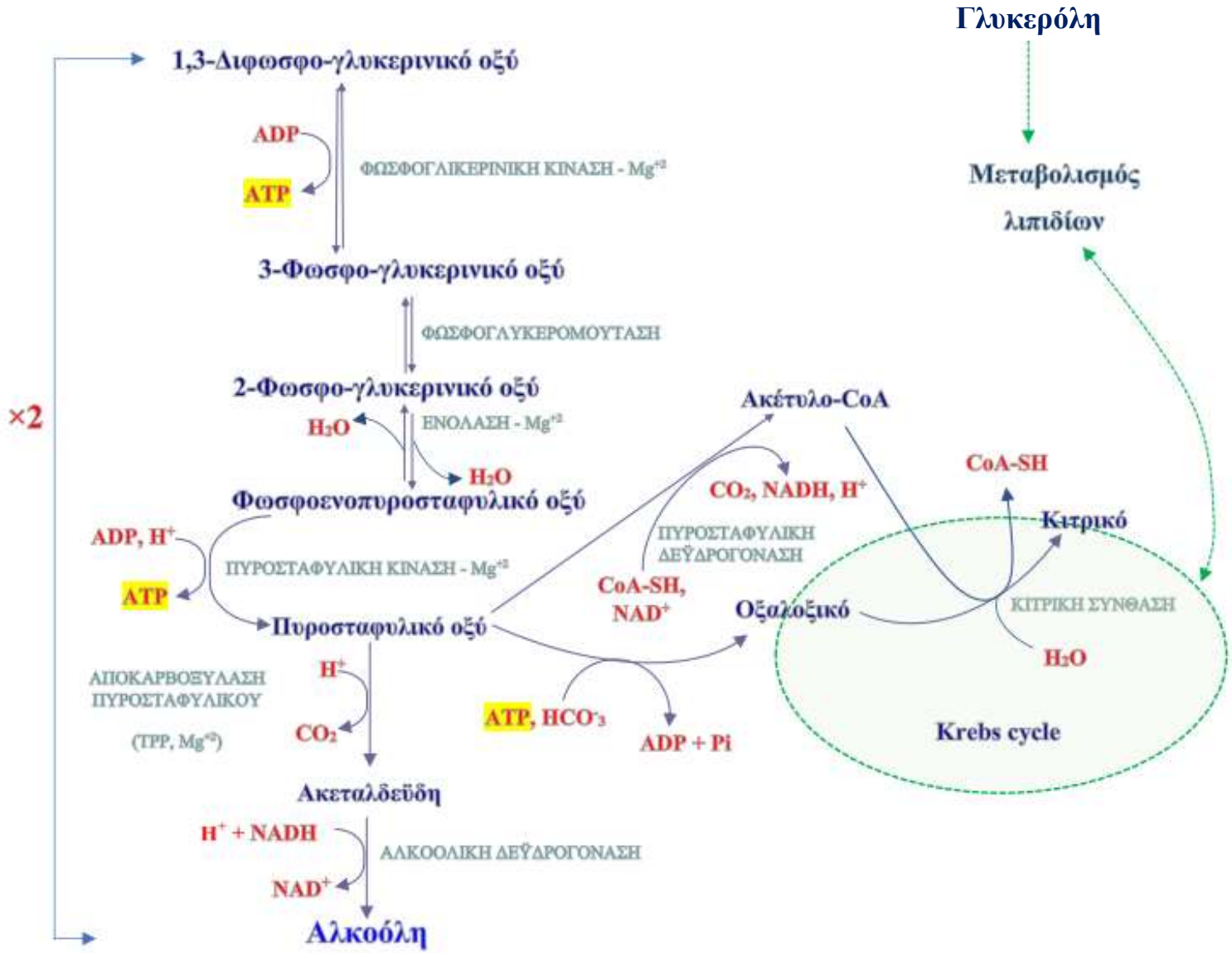


Γλυκόλυση & Αλκοολική ζύμωση

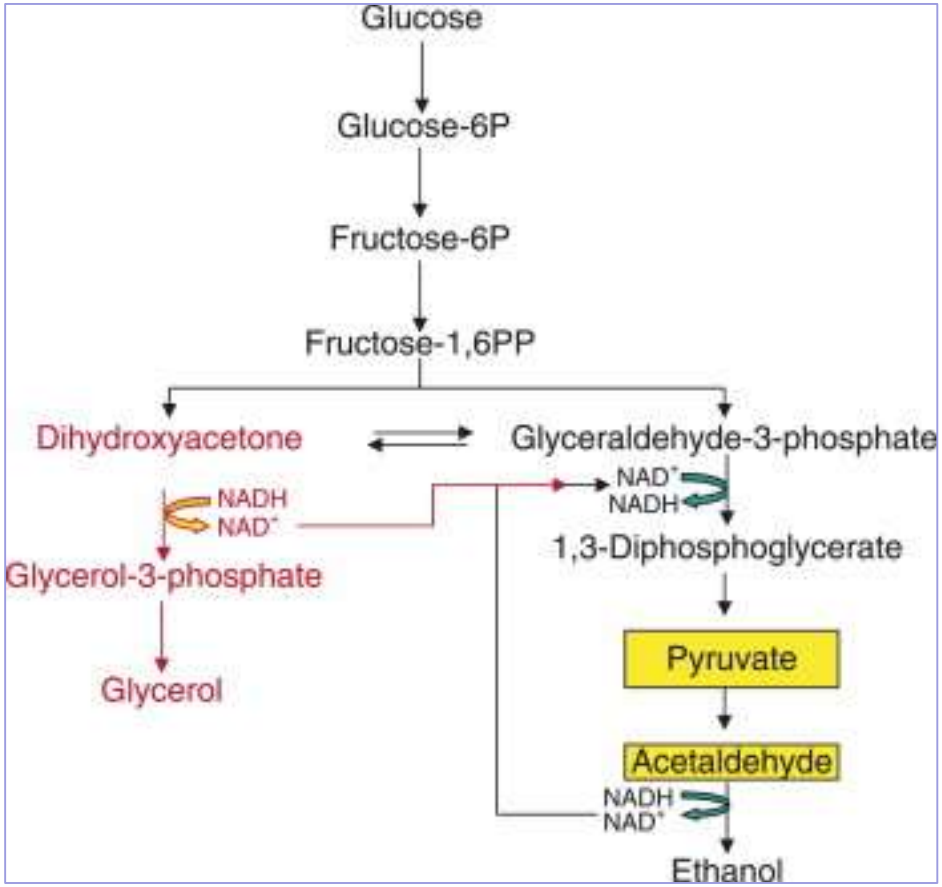


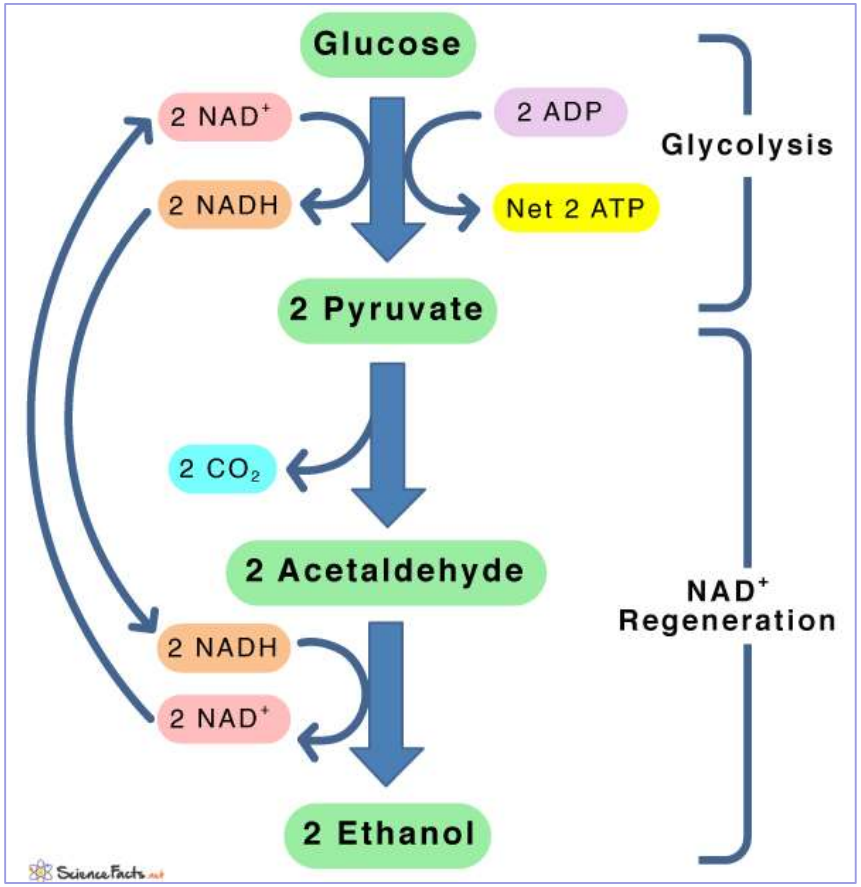
Συνέχεια στην επόμενη διαφάνεια

Γλυκόλυση & Αλκοολική ζύμωση



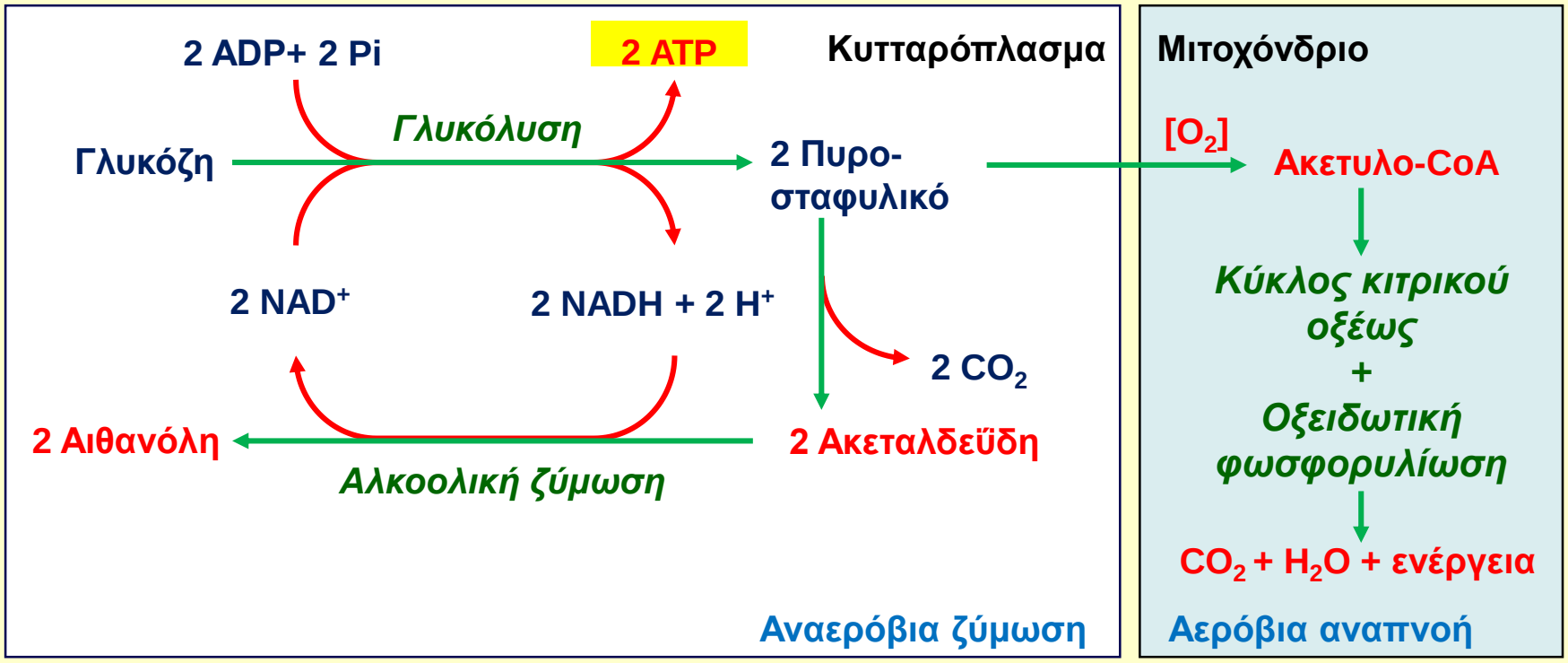
Γλυκόλυση & Αλκοολική ζύμωση





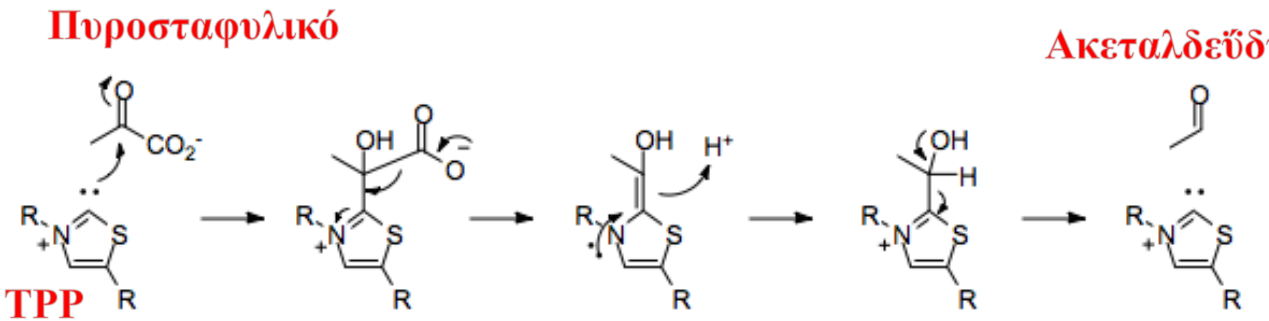
Σχήμα: Συνοπτικές παραστάσεις της αλκοολικής ζύμωσης.

Γλυκόλυση & Αλκοολική ζύμωση



Σχήμα: Σύνοψη της αλκοολικής ζύμωσης (Α. Μπεκατώρου).

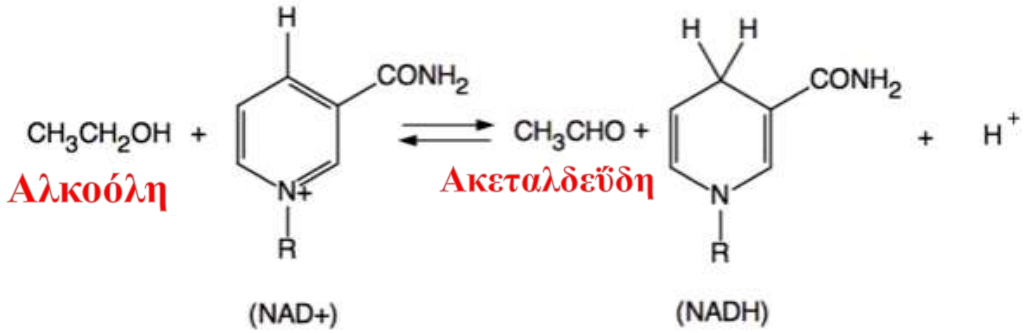
Ένζυμα της αλκοολικής ζύμωσης



https://en.wikipedia.org/wiki/Pyruvate_decarboxylase (monomer)

ΑΠΟΚΑΡΒΟΞΥΛΑΣΗ ΠΥΡΟΣΤΑΦΥΛΙΚΟΥ

(pyruvate decarboxylase; EC 4.1.1.1) [συνένζυμα: πυροφωσφορική θειαμίνη (TPP) + Mg^{+2}]



https://www.rcsb.org/structure/4w6z (τετραμερές)

ΑΛΚΟΟΛΙΚΗ ΔΕΫΔΡΟΓΟΝΑΣΗ

(alcohol dehydrgenase; ADH1; EC 1.1.1.1) [συνένζυμο: NAD^{+} + Zn^{+2}]

EC: Enzyme Commission number

Αλκοολική ζύμωση

$$C_6H_{12}O_6 + 2\ ADP + 2\ Pi \rightarrow 2\ CH_3CH_2OH + 2\ CO_2 + + 2\ ATP + 2\ H_2O$$

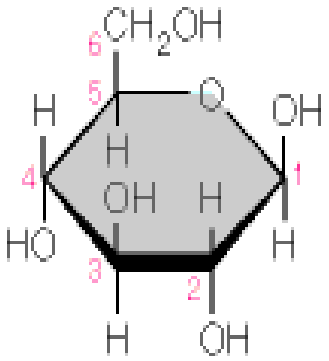
Θεωρητικά: **1 g σακχάρου → 0.51 g αιθανόλης + 0.49 g CO_2**

Πρακτική απόδοση: **~ 0.46 g αιθανόλης + 0.44 g CO_2**

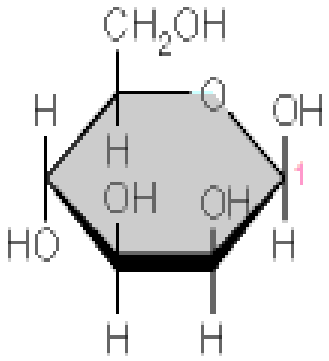
(λόγω απωλειών θερμότητας κ.α. μεταβολικών δραστηριοτήτων των σακχαρομυκήτων)

Αλκοολική ζύμωση

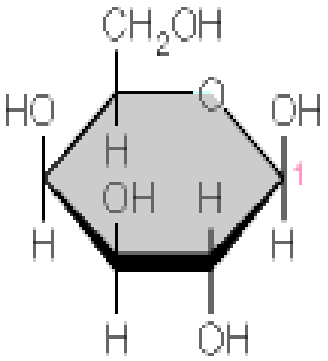
Απευθείας ζυμώσιμα σάκχαρα



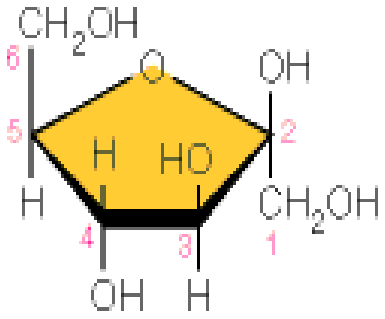
ΓΛΥΚΟΖΗ



ΜΑΝΝΟΖΗ



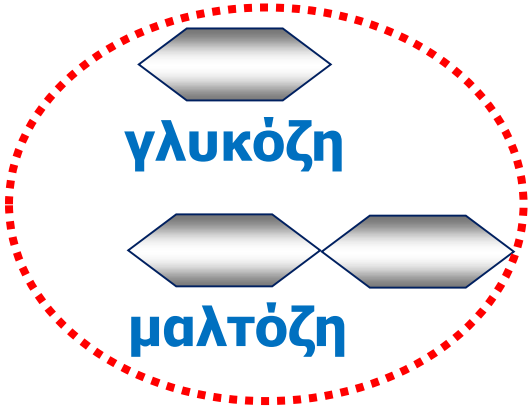
ΓΑΛΑΚΤΟΖΗ

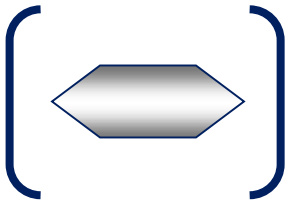


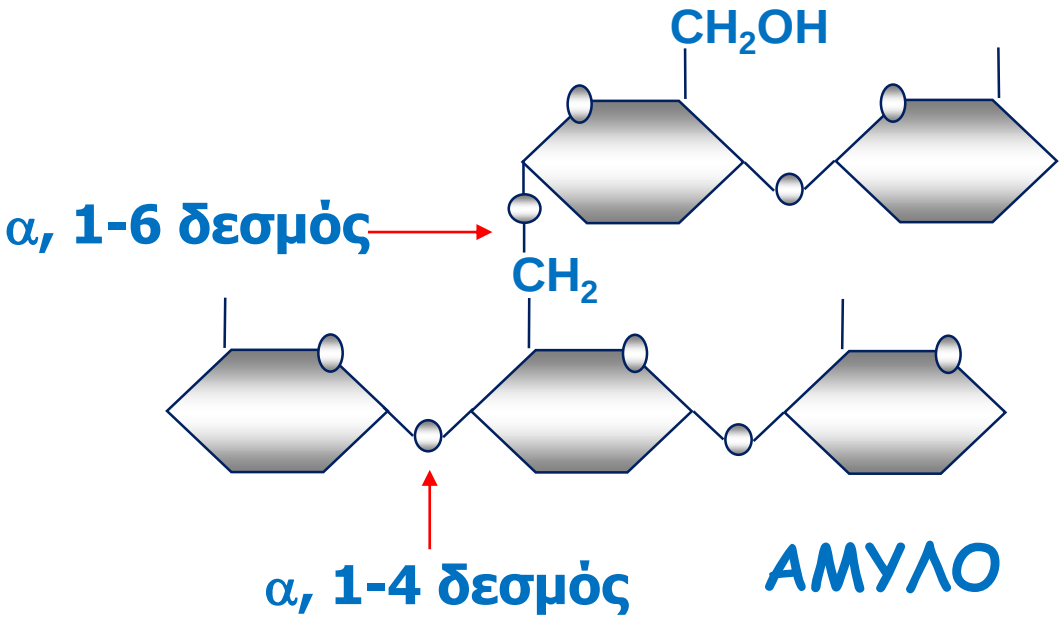
ΦΡΟΥΚΤΟΖΗ

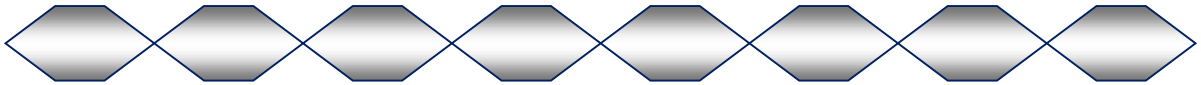
Αλκοολική ζύμωση

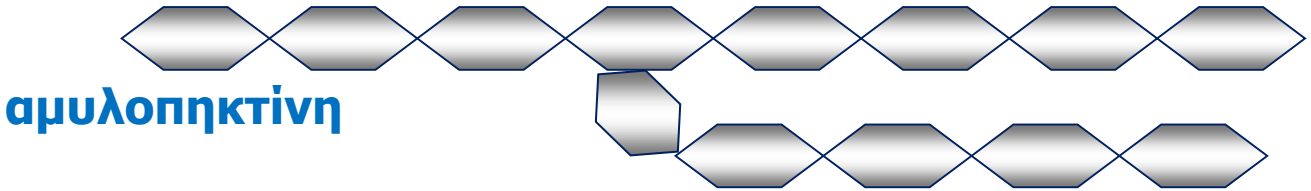
Ζυμώσιμα σάκχαρα μετά από ενζυμική υδρόλυση







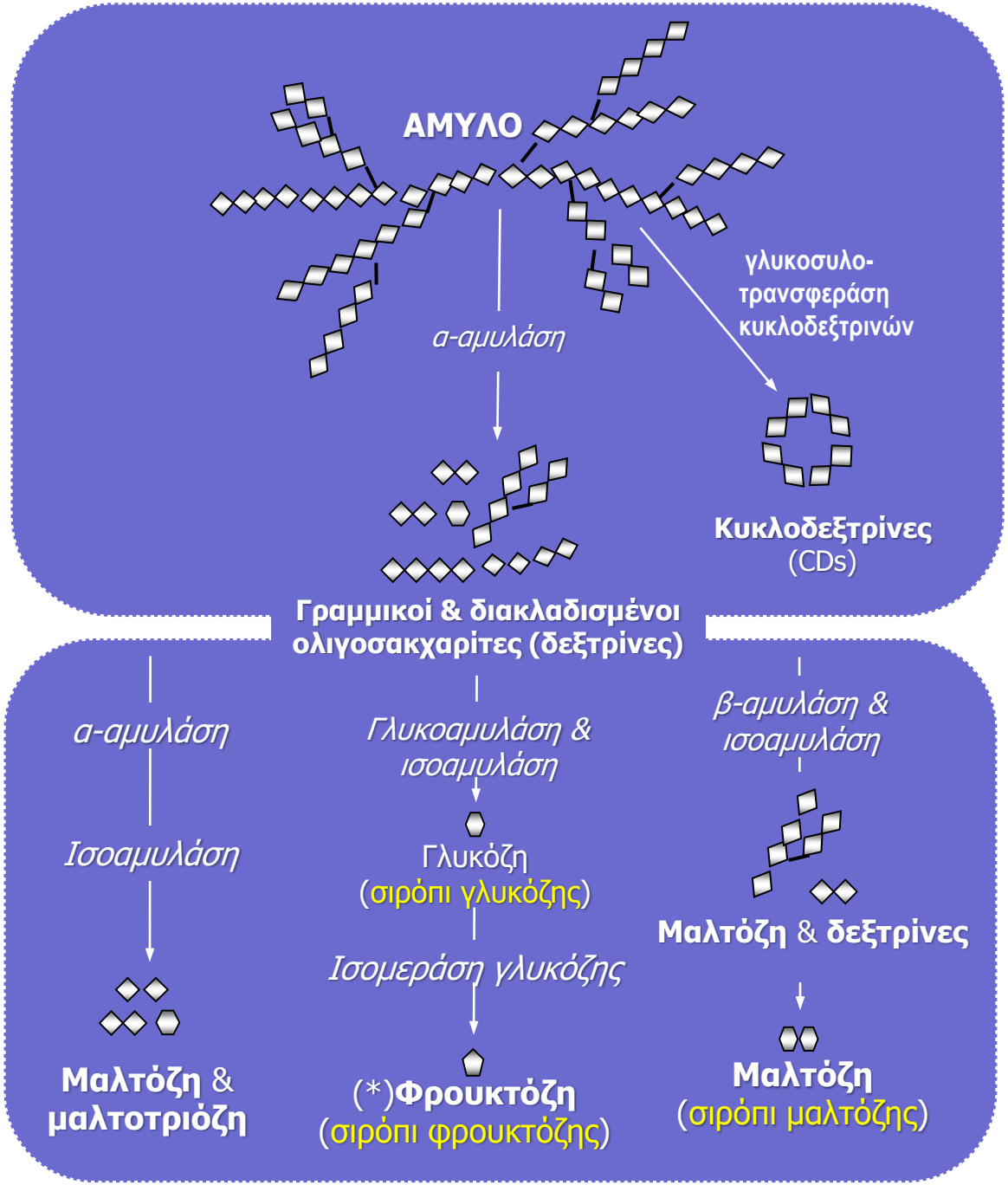




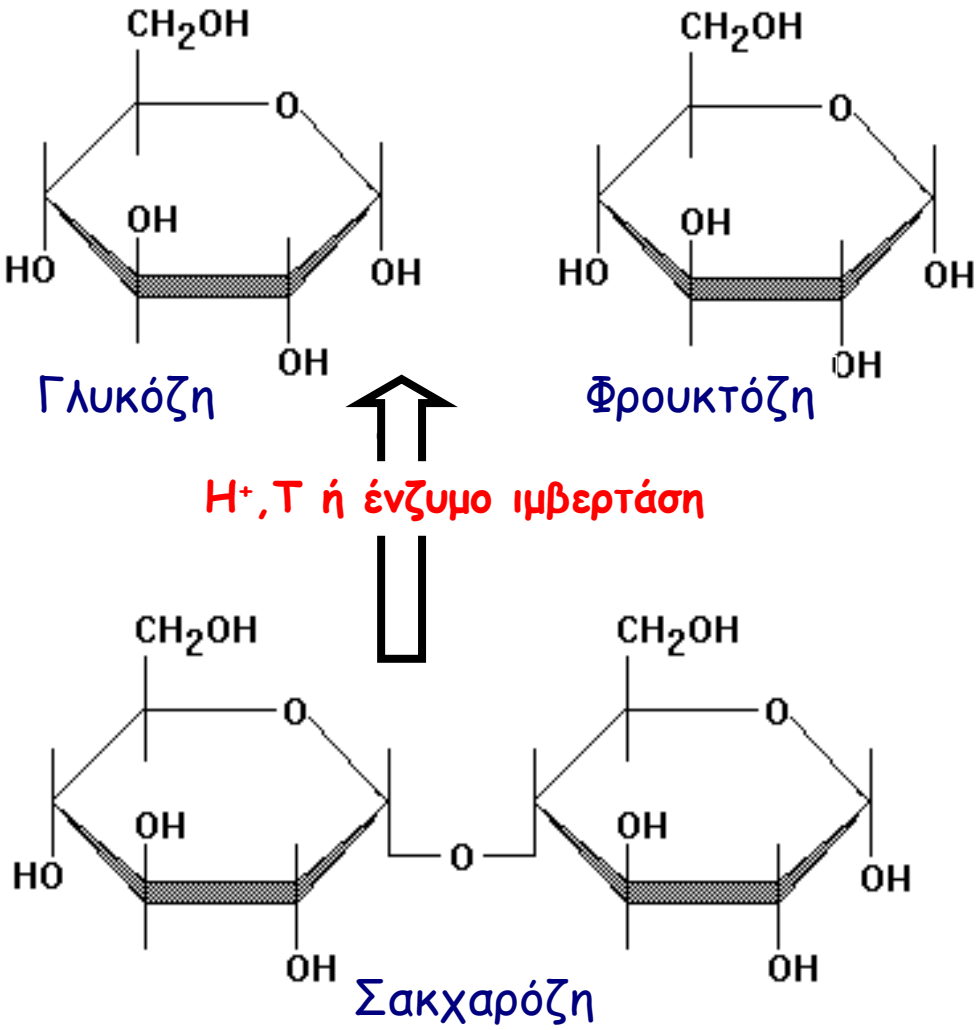
Υδρόλυση του αμύλου

Α. υγροποίηση

Β. Σακχαροποίηση



Σακχαρόζη (ζάχαρη)



Πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Οι περισσότερες πτητικές ενώσεις στα **φρούτα** προέρχονται από **τρεις κύριες βιοσυνθετικές οδούς**:

1. Την οδό **βιοσύνθεσης τερπενοειδών** (που ξεκινά από το **διφωσφορικό ισοπεντύλιο (IPP)** και **διφωσφορικό διμεθυλαλλύλιο (DMAPP)** για την παραγωγή μονοτερπενίων (C10) και σεσκιτερπενίων (C15)
2. Την **αποδόμηση λιπιδίων** (καταλυόμενη από διάφορες οξυγενάσες, λυάσες και συνθάσες για την παραγωγή οξέων, αλδεϋδών, κετονών, αλκοολών και εστέρων)
3. Την οδό **φαινυλοπροπανοειδών/βενζοειδών** (που ξεκινά από τη **L-φαινυλαλανίνη** και το άμεσο προϊόν της, το ***trans*-κινναμωμικό οξύ**, για την παραγωγή ποικιλίας πτητικών ενώσεων όπως **φαινυλοπροπανοειδή** (π.χ. ευγενόλη) και **βενζοειδή** (π.χ. φαινυλακεταλδεΰδη).

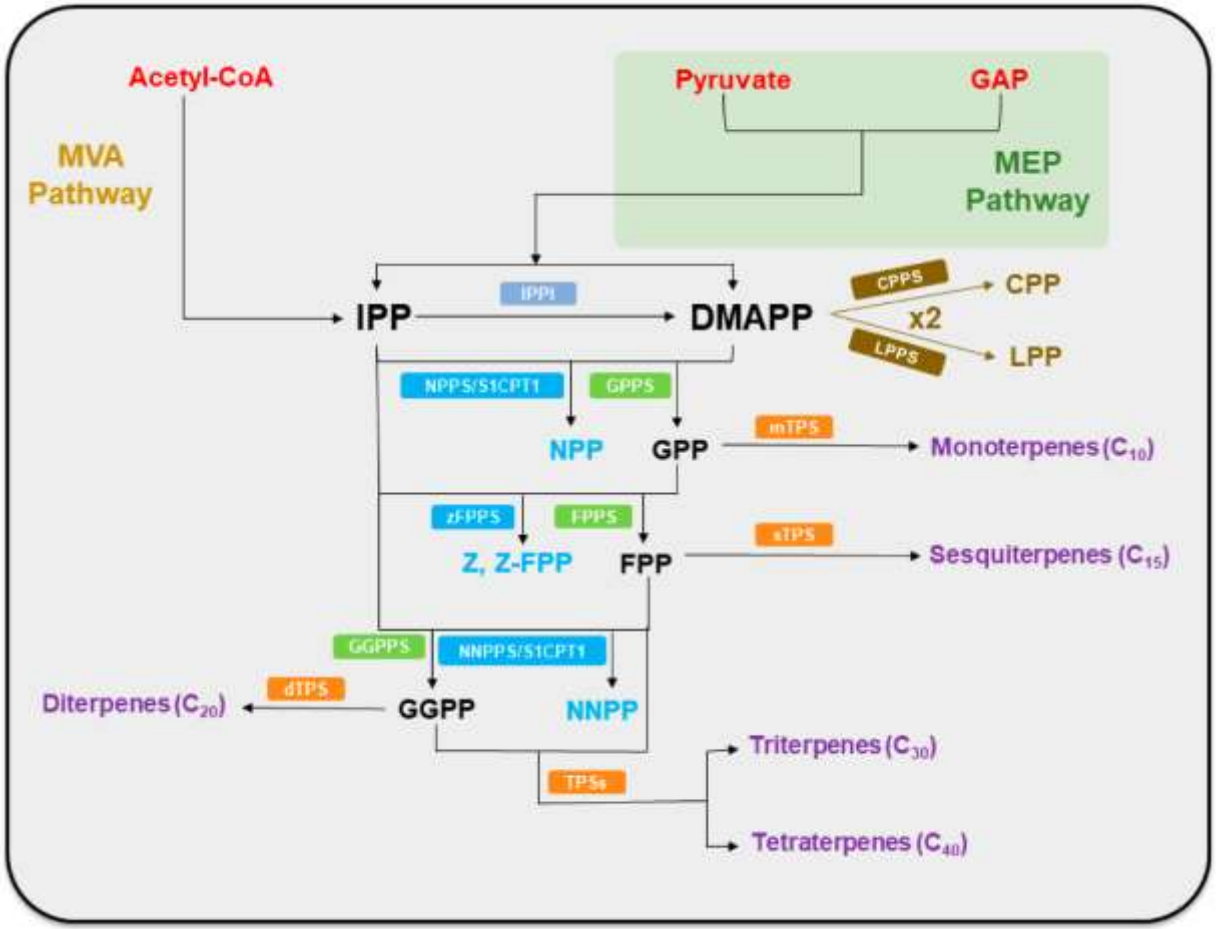
Plioni et al., 2021; https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128161

Πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Σχηματική απεικόνιση της βιοσύνθεσης των φυτικών τερπενοειδών

Οι πράσινες περιοχές αντιπροσωπεύουν πλαστίδια.

GAP, 3-P-D-γλυκεραλδεΰδη. **MVA**, οδός μεβαλονικού οξέως. **MEP**, οδός 2C-μεθυλ-4-P-D-ερυθριτόλης. **IPP**, 2-P-ισοπεντενύλιο. **IPPI**, ισομεράση του IPP. **DMAPP**, 2-P-διμεθυλαλλύλιο. **CPP**, 2-P-χρυσανθεμύλιο. **CPPS**, συνθάση του CPP. **LPP**, 2-P-λεβαντύλιο. **LPPS**, συνθάση του LPP. **NPP**, 2-P-νερολιδύλιο. **NPPS/S1CPT1**, συνθάση του NPP. **GPP**, 2-P-γερανύλιο. **GPPS**, συνθάση του GPP. **mTPS**, συνθάση μονοτερπενίων. **zFPPS, Z, Z-FPP**, συνθάσες. **FPP**, 2-P-φαρνεσύλιο. **FPPS**, συνθάση του **FPP**. **sTPS**, συνθάση σεσκιτερπενίων. **GGPP**, 2-P-γερανυλγερανύλιο. **GGPPS**, συνθάση του **GGPP.** **NNPPS/S1CPT2**, συνθάση του 2-P-νεριλνερύλιου. **dTPS**, συνθάση διτερπενίων. NNPP, 2-P-νερολιδύλιο. **TPSs**, συνθάσες τερπενίων.

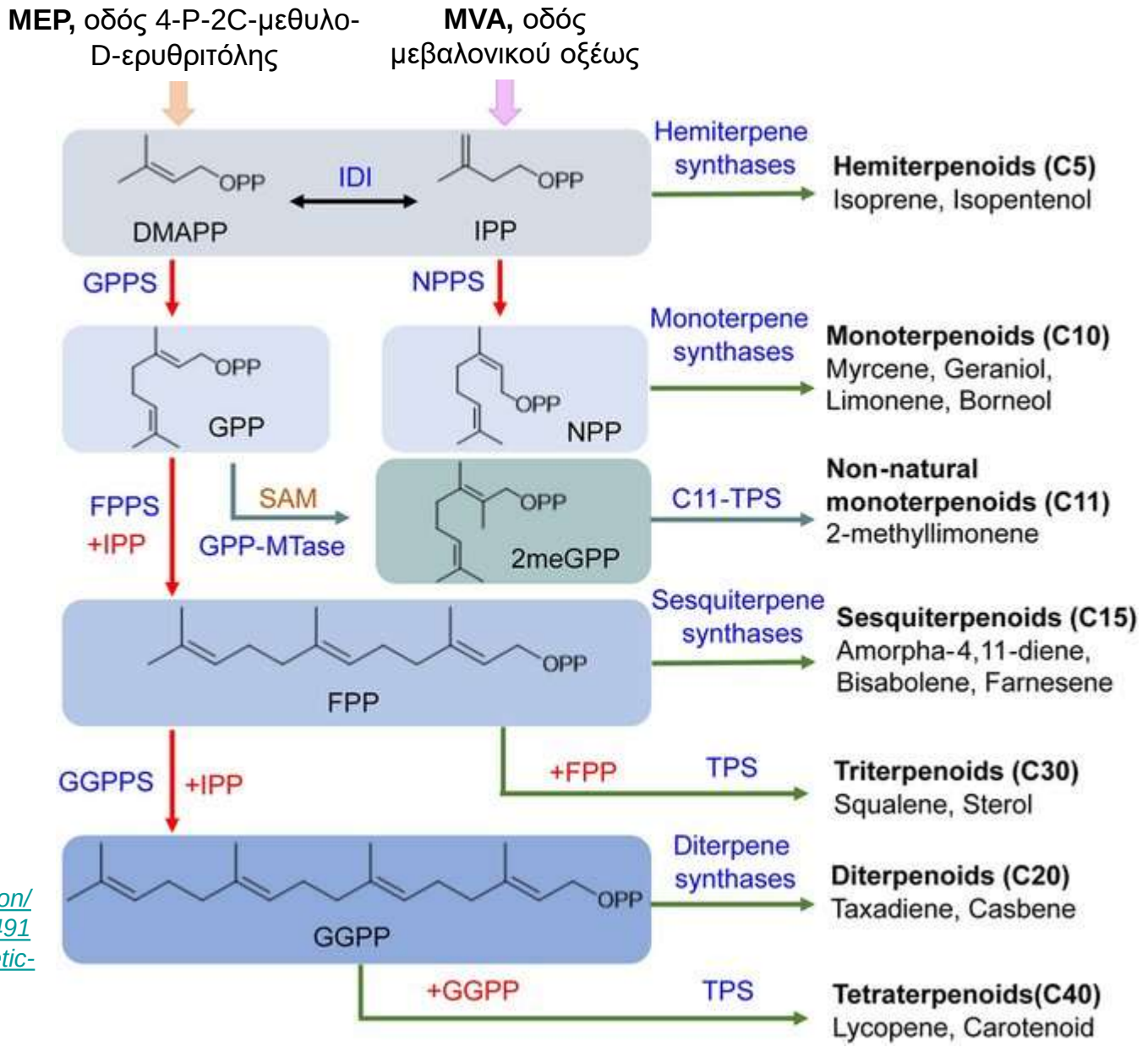


Βιοσύνθεση τερπενοειδών

https://www.mdpi.com/2223-7747/14/10/1428

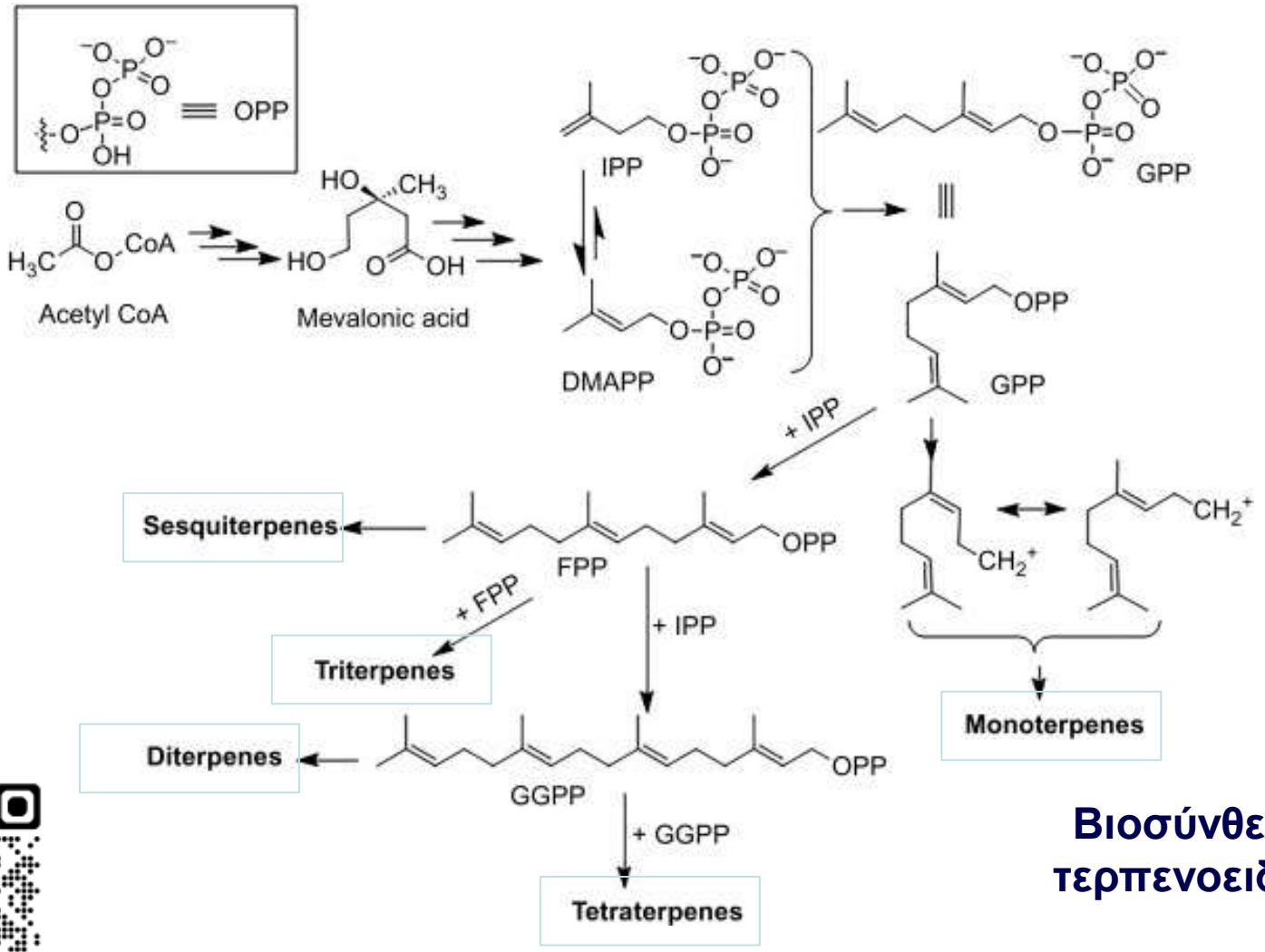
Πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Βιοσύνθεση τερπενοειδών



https://www.researchgate.net/publication/352871697/figure/fig1/AS:1040631354912771@1625117257787/The-biosynthetic-pathway-of-terpenoids_W640.jpg

Πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά



Βιοσύνθεση τερπενοειδών

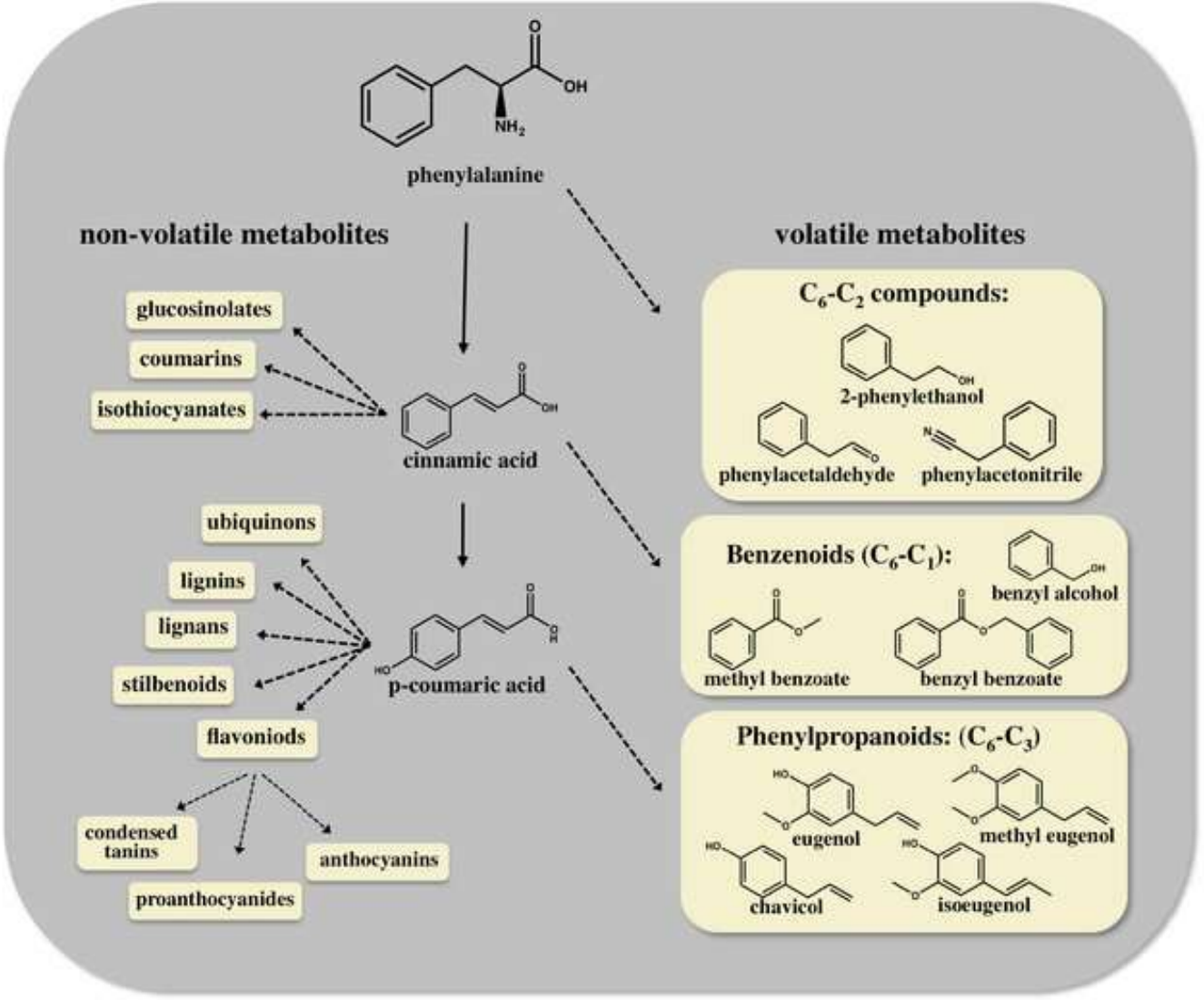
https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/terpenoid-synthesis

Πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Σχηματικό διάγραμμα της βιοσυνθετικής οδού των φαινυλοπροπανοειδών/ βενζοειδών στα φυτά.

Η φαινυλαλανίνη, που συντίθεται στο πλαστίδιο μέσω των οδών βιοσύνθεσης του **σικιμικού οξέος** και των **αρωματικών αμινοξέων**, αποτελεί πρόδρομη ένωση τόσο για **πτητικούς** (δεξιά) όσο και για **μη πτητικούς** (αριστερά) μεταβολίτες.

Παρουσιάζεται η χημική δομή αντιπροσωπευτικών πτητικών ενώσεων που συμβάλλουν στο άρωμα και τη γεύση λουλουδιών και φρούτων. Οι διακεκομμένες γραμμές αντιπροσωπεύουν περισσότερα από ένα ενζυμικά στάδια.



βιοσύνθεση φαινυλοπροπανοειδών/βενζοειδών

https://www.researchgate.net/publication/284879951/figure/fig1/AS:114312813750719 09@1744623475822/Schematic-diagram-of-the-phenylpropanoid-benzenoid-biosynthetic-pathway-in-plants_W640.jpg

Πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

(A) Βιοσύνθεση φαινυλοπροπανοειδών / βενζοειδών.

Όλα τα ένζυμα και τα ενδιάμεσα της οδού του σικιμικού οξέος στο κυτταρόπλασμα και στο υπεροξειόσωμα παρουσιάζονται.
BALDH, αφυδρογονάση βενζαλδεΰδης. **CA**, *trans*-κινναμωμικό οξύ. **CHD**, υδρατάση/δεϋδρογονάση του κινναμοϋλο-CoA. **CFAT**, ακυλοτρανσφεράση κονιφερυλικής αλκοόλης. **C4H**, 4-υδροξυλάση κινναμωμικού. **CNL**, λιγάση κινναμωμικού-CoA. **4CL**, λιγάση του 4-υδροξυκιναμοϋλ-CoA. **EGS**, συνθάση ευγενόλης. **IEMT**, Ο-μεθυλοτρανσφεράση ισοευγενόλης. **IGS**, συνθάση ισοευγενόλης. **PAL**, αμμωνιακή λυάση της φαινυλαλανίνης. **KAT**, 3-κετοακυλ-θειολάση 1.

(B) Χημικές δομές βενζοειδών (C_6–C_1) ενώσεων:

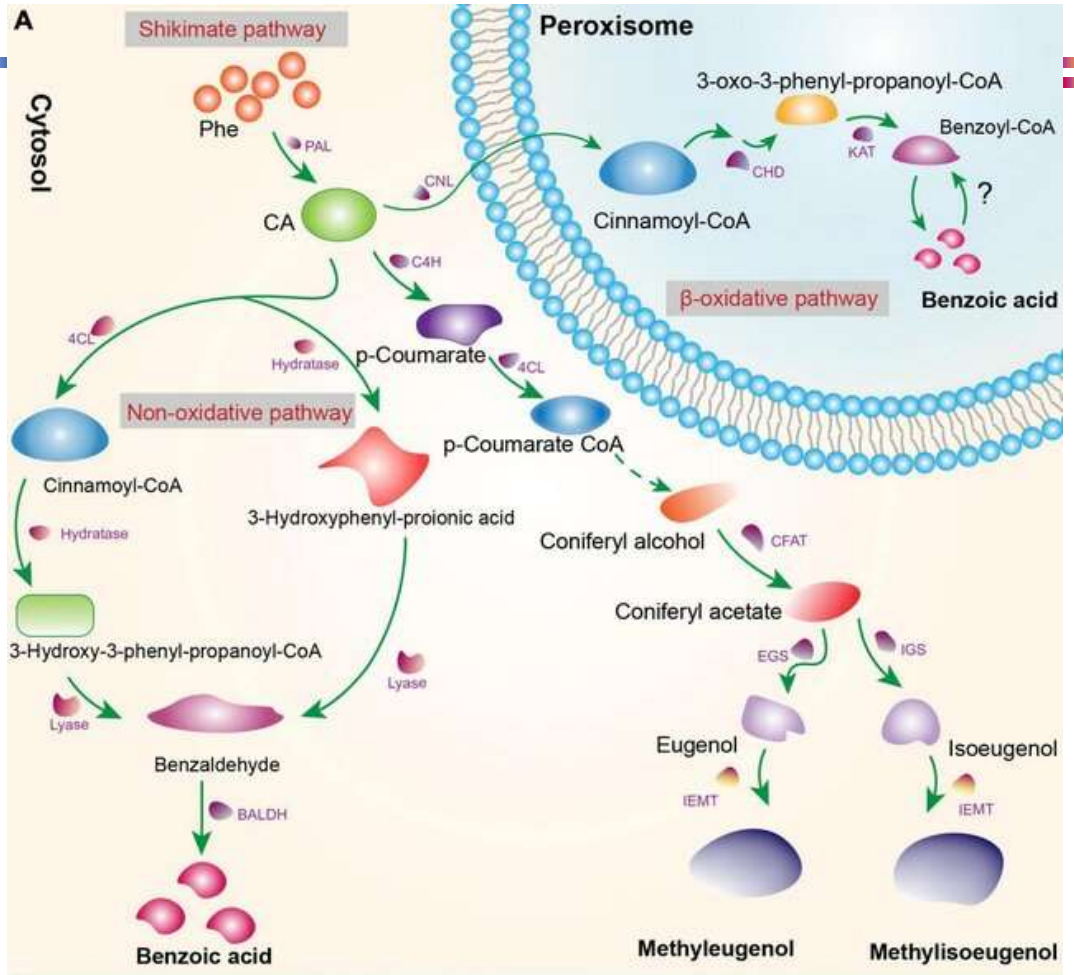
A, μεθυλοβενζόλιο. B, βενζαλδεΰδη. C, μεθυλικός εστέρας 2-υδροξυβενζοϊκού οξέος (μεθυλοσαλικυλικού). D, βενζυλικός εστέρας του (E)-2-μεθυλ-2-βουτενοϊκού οξέος (βενζυλοτιγλικό). E, 4-υδροξυ-3-μεθοξυβενζαλδεΰδη (βανιλίνη).

Συγγενείς φαινυλοπροπανοειδείς (C_6–C_2) ενώσεις:

F, αιθυλοβενζόλιο. G, φαινυλακεταλδεΰδη. H, ακετοφαινόνη. I, 2-φαινυλαιθανόλη. J, 2-φαινυλακετονιτρίλιο.

Φαινυλοπροπανοειδείς (C_6–C_3) ενώσεις:

K, (E)-κινναμωμική αλδεΰδη. L, φαινυλοπροπανόλη.



https://www.researchgate.net/publication/359149484/f

Πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Οδός βιοσύνθεσης παραγώγων λιπαρών οξέων.

Οι πρόδρομες ενώσεις των λιπαρών οξέων (λινελαϊκό και λινολενικό οξύ) εισέρχονται στην οδό LOX και μετατρέπονται σε 9- και 13-υδροϋπεροξείδια, τα οποία οξειδώνονται και μετατρέπονται σε πτητικές ενώσεις από την υδροϋπεροξειδική λυάση (HPL) και την αλκοολική δεϋδρογονάση (ADH).

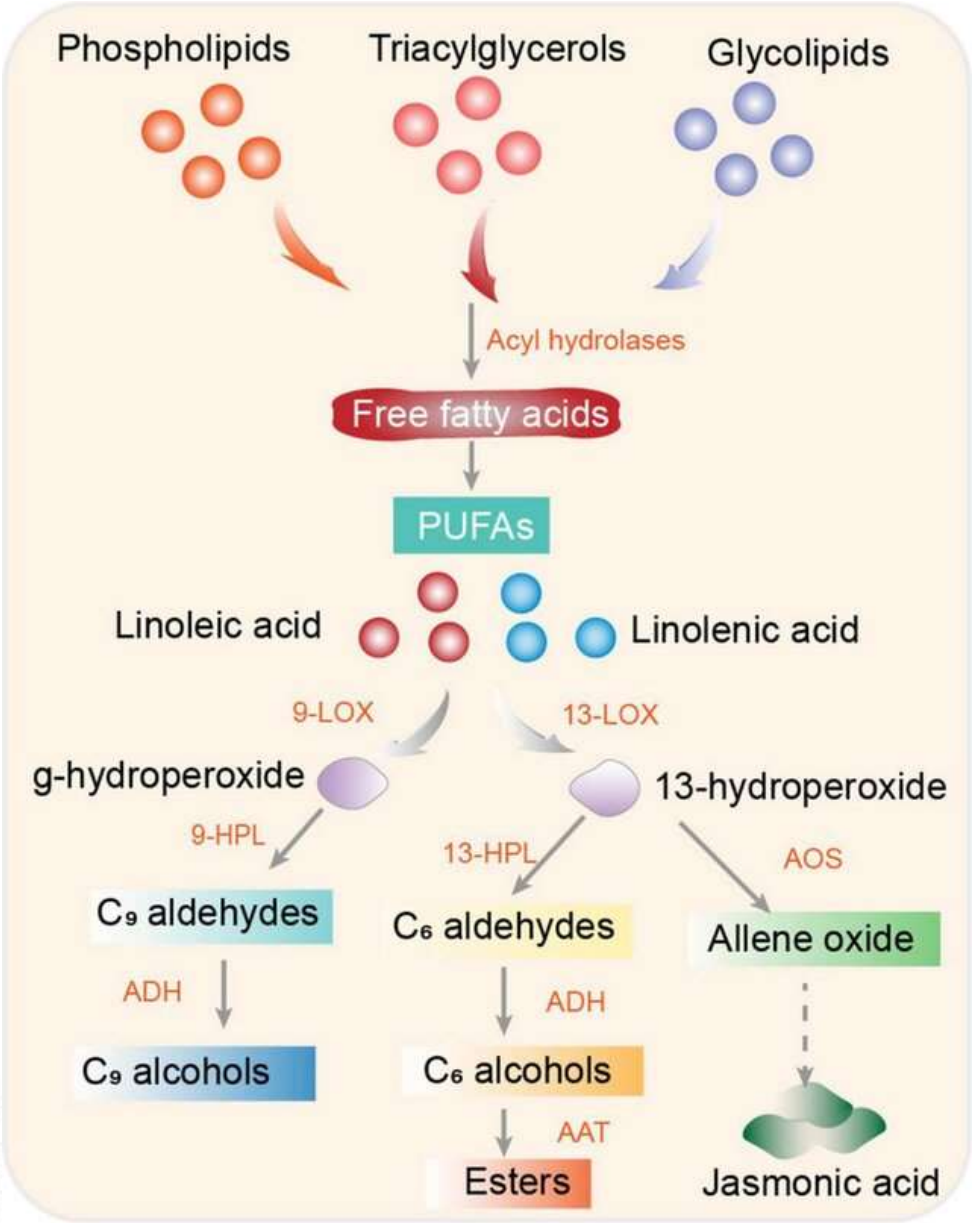
AAT, ακυλοτρανσφεράση αλκοόλης.

AOS, συνθάση αλλενικών οξειδίων.

LOX, λιποξυγενάση.

PUFAs, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα.

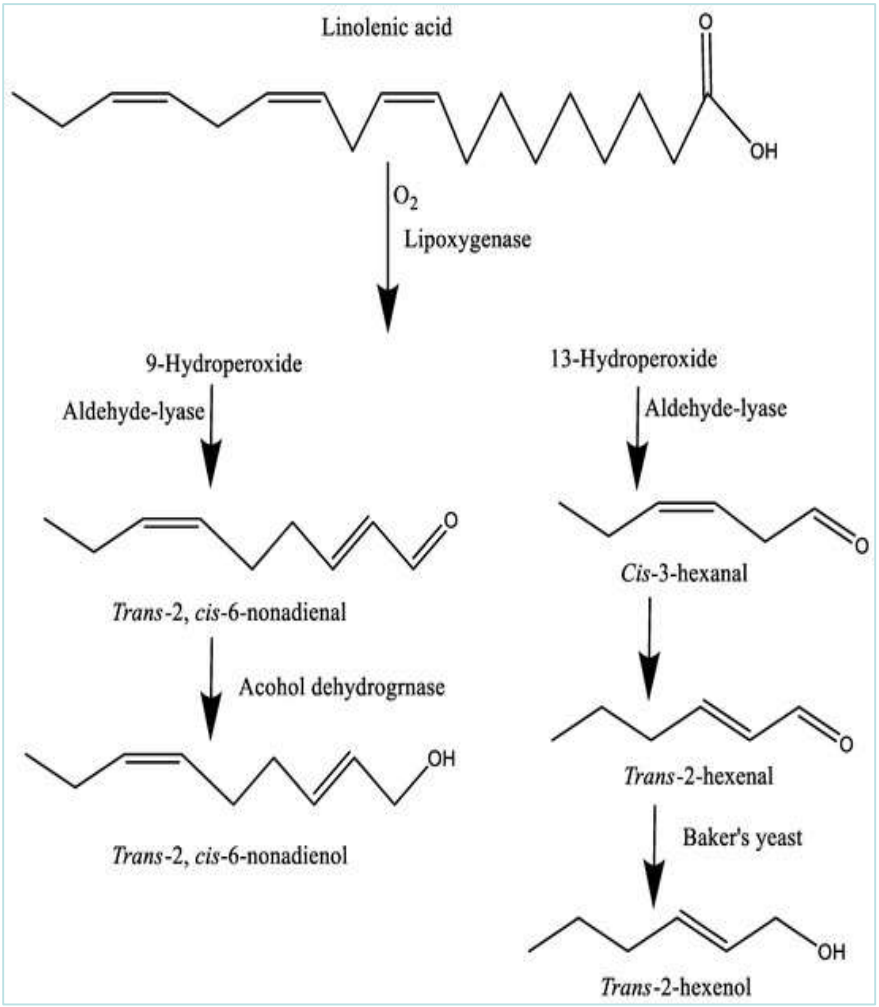
https://www.researchgate.net/publication/359149484/

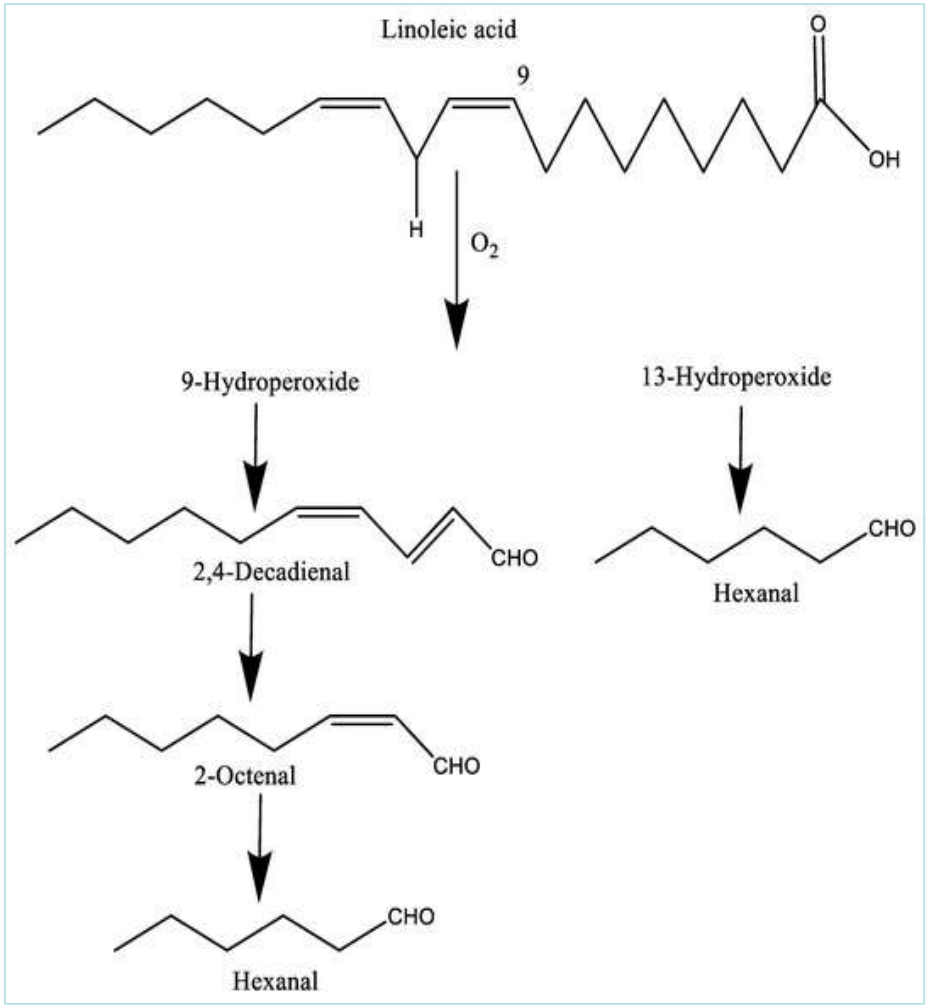


αποδόμηση λιπιδίων

Πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

αποδόμηση λιπιδίων





https://www.mdpi.com/1420-3049/27/15/5014

Πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά και παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Άλλες οσμηρές πτητικές ενώσεις μπορεί να προέρχονται από **θερμική επεξεργασία** της πρώτης ύλης, π.χ. στις **σταφίδες** παράγονται επίσης πτητικές ενώσης από τη διαδικασία της ξήρανσης

Οι κυριότερες αντιδράσεις που εμπλέκονται είναι:

A. η αντίδραση **Maillard**, η οποία παράγει ετεροκυκλικές ενώσεις αζώτου (**φουράνια** όπως 2-πεντυλοφουράνιο, φουρφουράλη, **πυρρόλια**, **πυραζίνες** όπως 3-αιθυλ-2,5-διμεθυλοπυραζίνη, 2,6-διαιθυλοπυραζίνη)

B. η αποδόμηση **Strecker**, η οποία παράγει α-αμινοκαρβονυλικές ενώσεις που συμπυκνώνονται σε **αλκυλοπυραζίνες**

C. και η θερμική αποδόμηση των σακχάρων (**καραμελοποίηση**), η οποία παράγει ενώσεις χαμηλού μοριακού βάρους, ανοιχτής αλυσίδας ή ετεροκυκλικές, όπως τα φουράνια

Πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά και παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Αυτοί οι διακριτοί οσμηροί παράγοντες της σταφίδας μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε **έξι τυπικές οσφρητικές περιγραφές:**

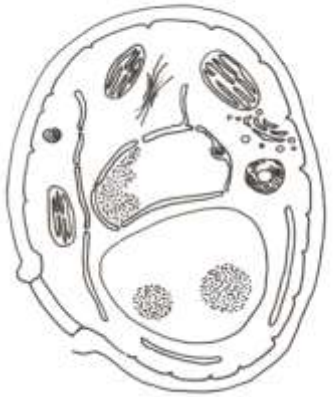
- **Ανθώδες, φρουτώδες, πράσινο**, **ψημένο**, **λιπαρό** και **χημικό**

και περιλαμβάνουν:

- **αλειφατικά οξέα** (κυρίως C6–C10)
- **αλδεΰδες** (C5–C7, 2-επτενάλη, 2-οκτενάλη, 2-εννεανάλη, 2,4-εννεαδιενάλη)
- **τερπενοειδή** (γερανιόλη, λιναλοόλη, β-δαμασκηνόνη)

Οι σταφίδες περιέχουν επίσης προϊόντα της αντίδρασης Maillard, όπως φουράνια, πυραζίνες, και φαινυλακεταλδεΰδη, που συμβάλλουν αντίστοιχα σε χαρακτηριστικά φρουτώδη, ψημένα και ανθώδη αρώματα.

Πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά και παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης



- Ο ζυμομύκητας *Saccharomyces cerevisiae* χρησιμοποιείται για τουλάχιστον 8 χιλιετίες στην παραγωγή αλκοολούχων ποτών.
- Μαζί με την αιθανόλη και το CO_2, οι ζυμωτικές τους καλλιέργειες (όπως και άλλων μικροοργανισμών) περιέχουν πολλές πτητικές, χαμηλού μοριακού βάρους ενώσεις αρώματος (**αλκοόλες, αλδεΰδες, οργανικά οξέα, εστέρες, οργανικές θειούχες ενώσεις** και **καρβονυλικές ενώσεις**), με ισχυρή επίδραση στην ποιότητα των προϊόντων.
- Η λεπτή αρωματική ισορροπία αυτών των ενώσεων σε ζυμωμένα τρόφιμα και ποτά χρησιμοποιείται συχνά ως οργανοληπτικό «**αποτύπωμα**» για συγκεκριμένα προϊόντα και *brands*.

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Τα προϊόντα ζύμωσης περιέχουν:

- Πτητικά συστατικά της πρώτης ύλης (ποικιλιακό άρωμα σταφυλιού)
- Παραπροϊόντα του μηχανισμού αλκοολικής ζύμωσης & του μεταβολισμού των ζυμομυκήτων
- Προϊόντα χημικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των προϊόντων ζύμωσης & συστατικών της πρώτης ύλης κατά και μετά τη ζύμωση και κατά την ωρίμανση (παλαίωση)
  - ✓ 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 και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

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

- μεθανόλη (δεν είναι παραπροϊόν)
- αλδεΰδες (κυρ. *ακεταλδεΰδη*)
- ανώτερες αλκοόλες
- δικετόνες

  [διακετύλιο (2,3-βουτανοδιόνη)

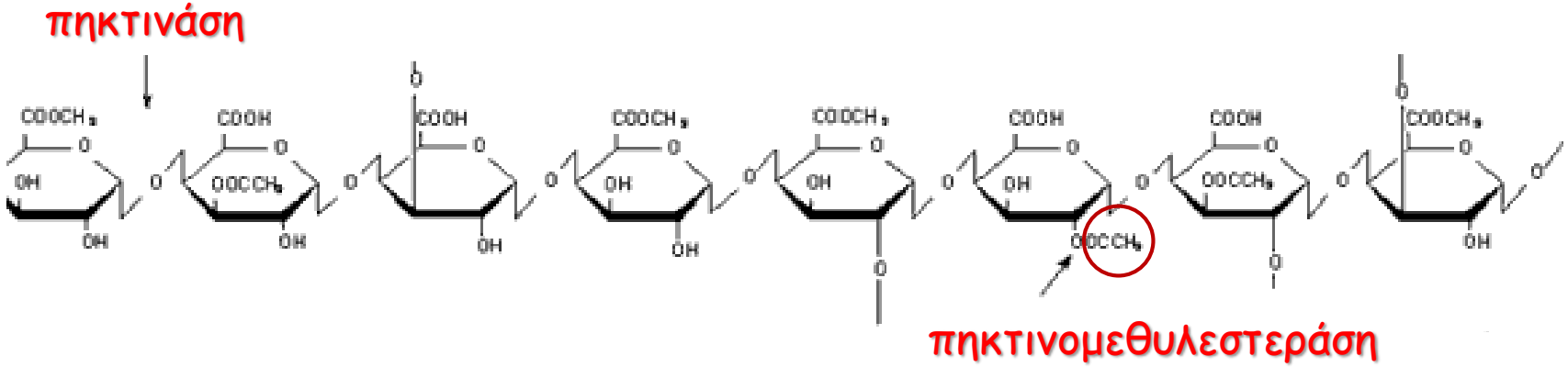
  & 2,3-πεντανοδιόνη]
- εστέρες
- οξέα
- γλυκερόλη
- θειούχες ενώσεις
- ακετάλες

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Μεθανόλη – CH_3OH

Προέλευση:

• από την πρώτη ύλη (σταφύλι): Υδρόλυση πηκτινικών υλών (πολυμερή α-γαλακτουρονικού οξέως + μεθυλεστέρων του) με τη δράση του ενζύμου πηκτινομεθυλεστεράση (PME)



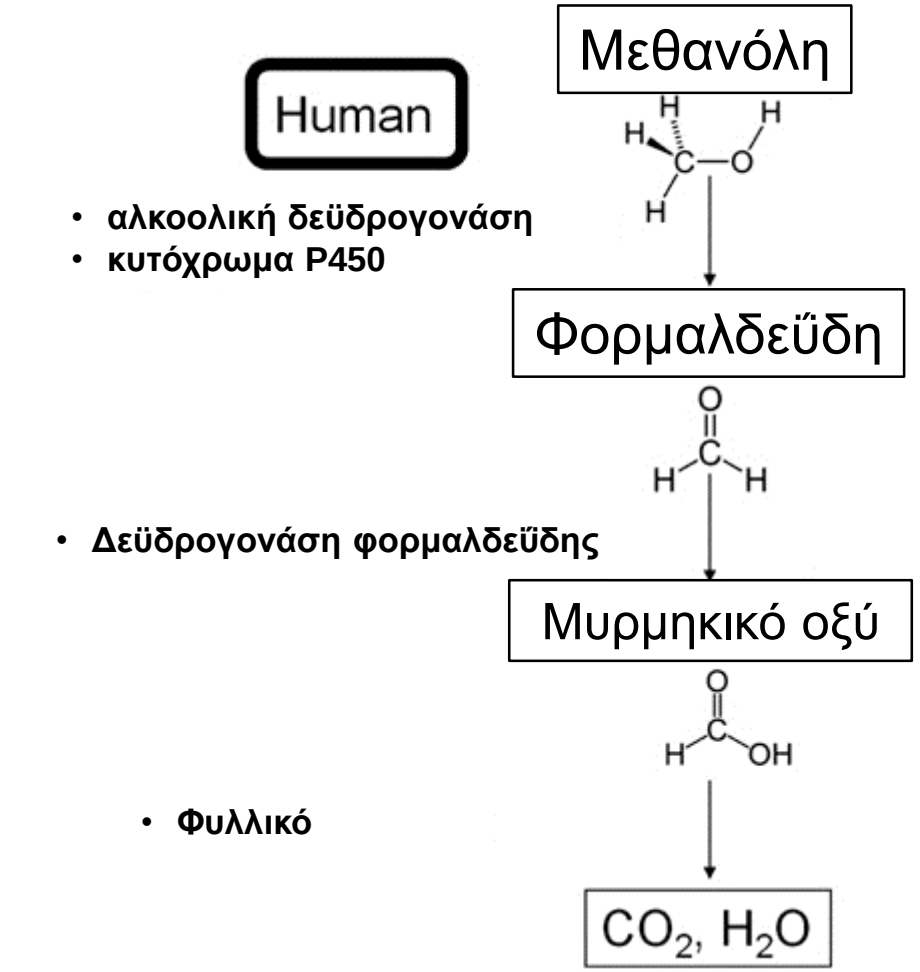
• από αναερόβιος μεταβολισμός ορισμένων βακτηρίων

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Μεθανόλη – CH_3OH –

Ιδιότητες

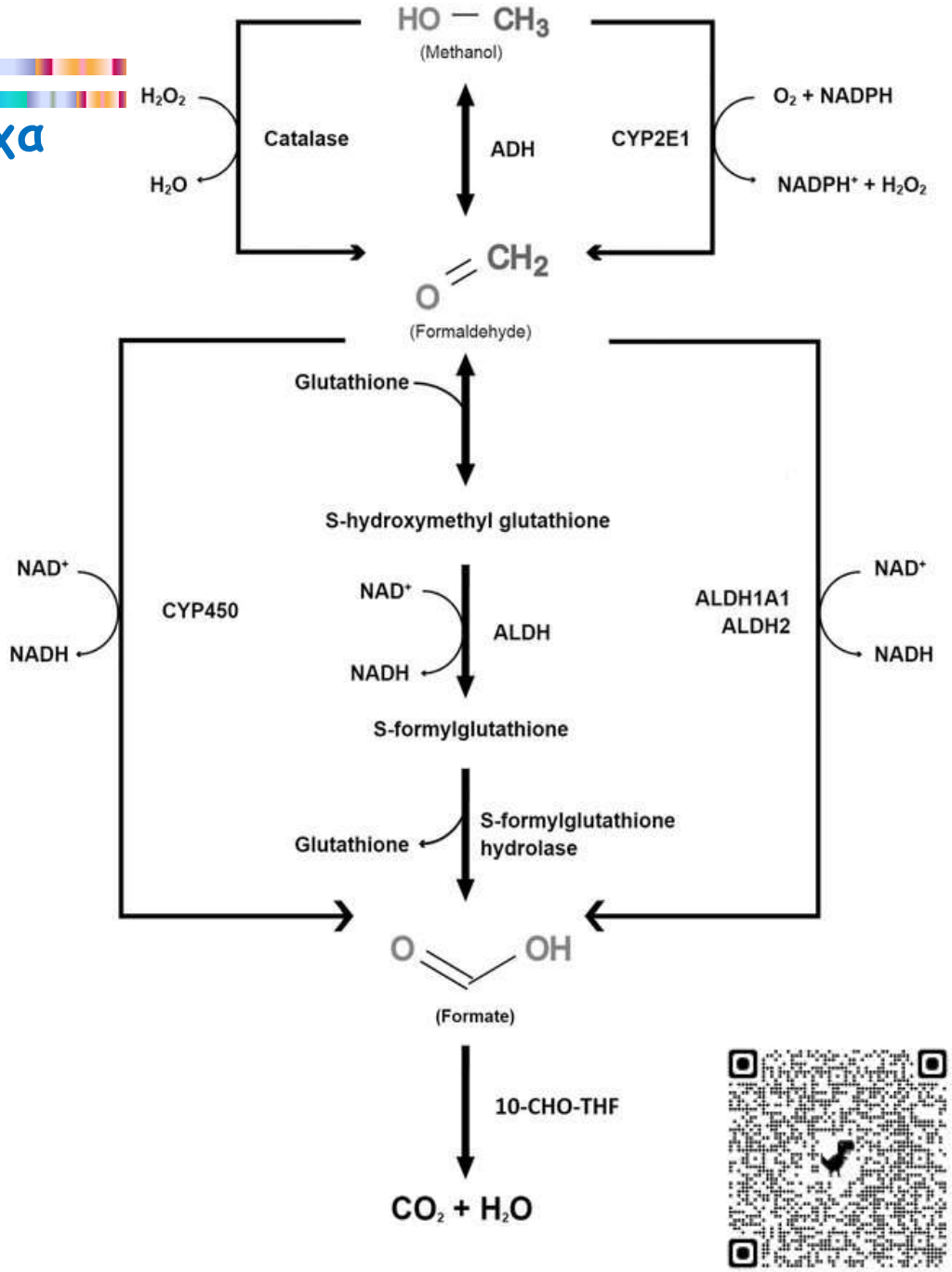
- Είναι ουσία τοξική που προκαλεί τύφλωση (10 mL προκαλούν πλήρη τύφλωση με καταστροφή του οπτικού νεύρου και 30 mL είναι θανατηφόρα)
- Η τοξική δράση της οφείλεται στη μετατροπή της σε φορμαλδεΰδη με το σχήμα
- Ο προσδιορισμός της γίνεται με αέρια χρωματογραφία με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας FID



Πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά & παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης

Μεθανόλη – CH_3OH

Μεταβολισμός στο ανθρώπινο σώμα



Σχήμα
Μεταβολισμός της μεθανόλης και των μεταβολιτών της στο ανθρώπινο σώμα.

Συντομογραφίες:

10-CHO-THF: 10-φορμυλο-τετραϋδρο-φυλλικό

ADH: αλκοολική δεϋδρογονάση
ALDH: αλδεϋδική δεϋδρογονάση

ALDH1A1: αλδεϋδική δεϋδρογονάση, οικογένεια 1, μέλος 1
ALDH2: μιτοχονδριακή αλδεϋδική δεϋδρογονάση
CYP2E1: κυτόχρωμα P450, οικογένεια 2, υποοικογένεια Ε, μέλος 1

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Μεθανόλη – CH_3OH

- παράγεται αμέσως μετά τη θραύση των σταφυλιών (επαφή PME 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

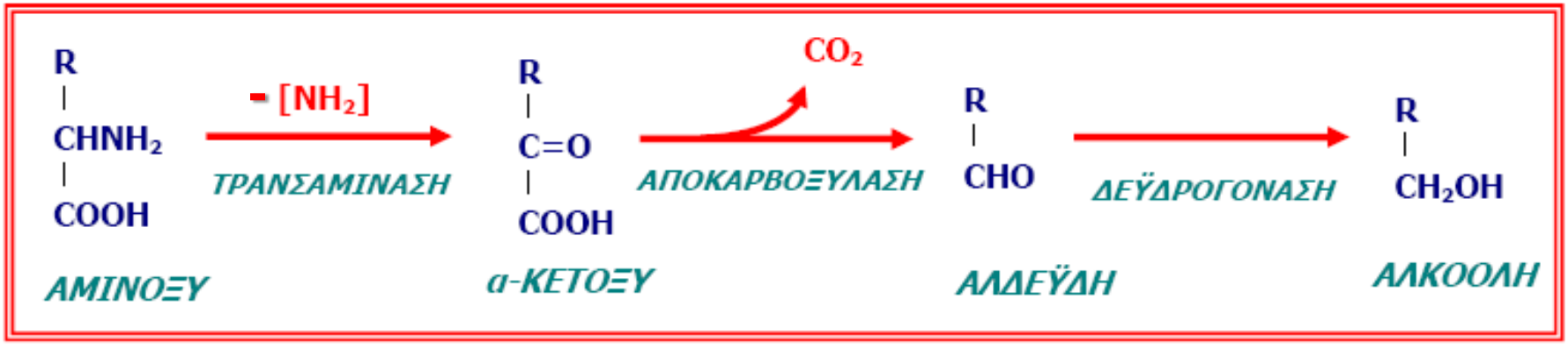
- η συγκέντρωση της έχει σημασία για την παραγωγή καλής ποιότητας αποσταγμάτων από κρασί

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Ανώτερες αλκοόλες (ζυμέλαια)

Προέλευση:
αναγωγή των αντίστοιχων αλδεϋδών που προέρχονται συνήθως από την τρανσαμίνωση των αμινοξέων που προκύπτουν από την διάσπαση των πρωτεϊνών της ζύμης & του γλεύκους.

Γενικός μηχανισμός:

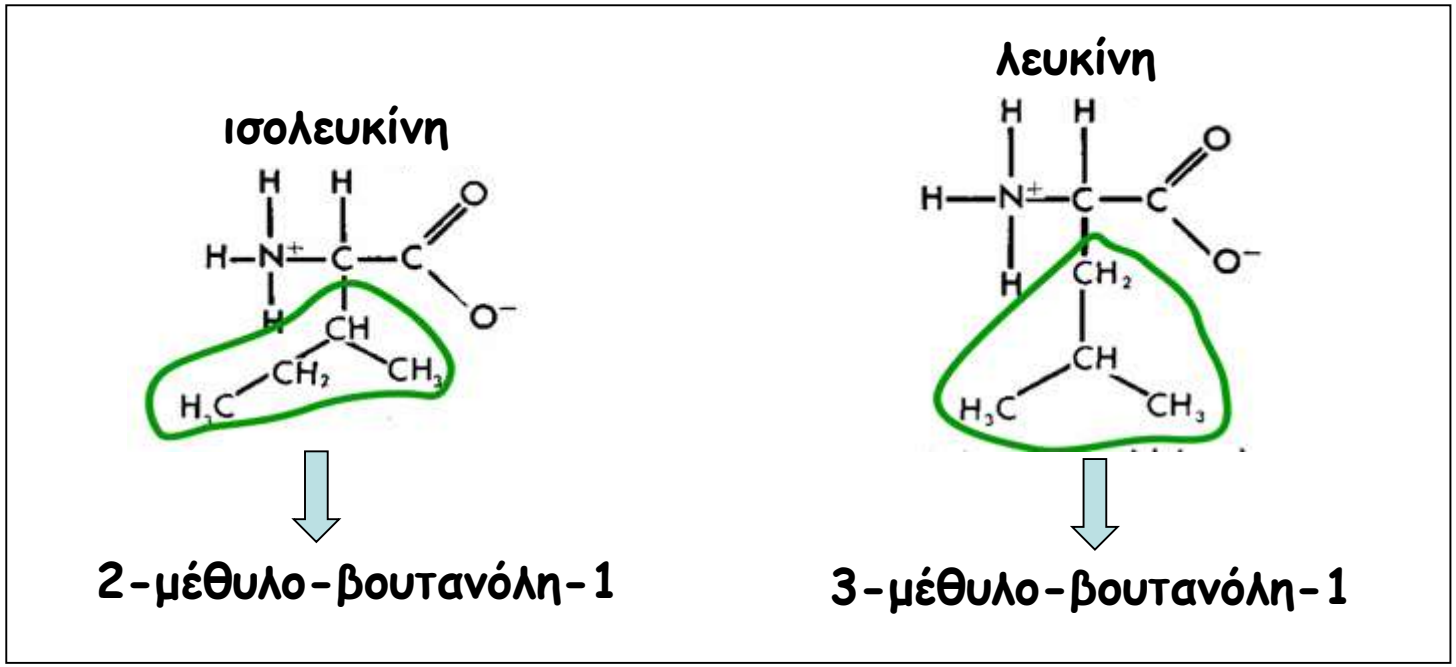


Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Ανώτερες αλκοόλες (ζυμέλαια)

Προέλευση ανώτερων αλκοολών

Π.χ. αμυλικές αλκοόλες:



Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Ανώτερες αλκοόλες (ζυμέλαια)

- Η ζύμωση συνοδεύεται από σχηματισμό **αλειφατικών και αρωματικών αλκοολών**, γνωστών ως **ζυμέλαια** (***fusel alcohols***), από τη γερμανική λέξη *fusel* (*κακό ποτό*), που λαμβάνεται κατά την απόσταξη των αλκοολούχων ποτών και είναι εμπλουτισμένο με αυτές τις ανώτερες αλκοόλες (ουρά).
- Ενώ οι ανώτερες αλκοόλες σε υψηλές συγκεντρώσεις προσδίδουν ανεπιθύμητες οσμές, χαμηλές συγκεντρώσεις αυτών των ενώσεων και των εστέρων τους συμβάλλουν ουσιαστικά στις γεύσεις και τα αρώματα των ζυμωμένων τροφίμων και ποτών.
- Οι ανώτερες αλκοόλες προέρχονται από τον καταβολισμό των αμινοξέων μέσω μιας οδού **Ehrlich**.
- Τα αμινοξέα αποτελούν την κύρια πηγή **αφομοιώσιμου Ν** στο γλεύκος (yeast assimilable nitrogen).

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

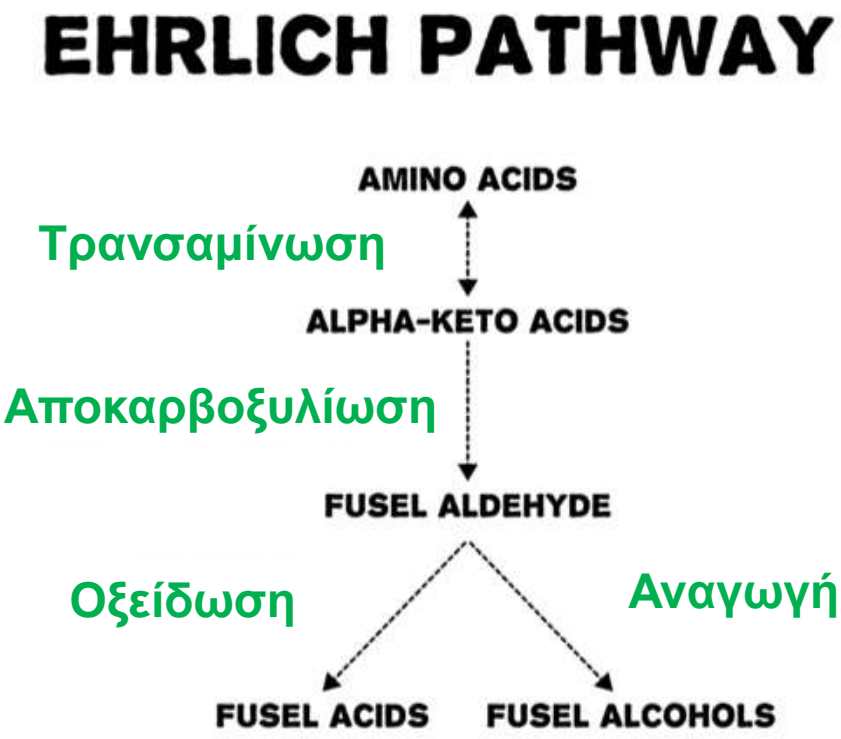
Ανώτερες αλκοόλες (ζυμέλαια)

- Τα αμινοξέα που αφομοιώνονται μέσω της οδού **Ehrlich** (**βαλίνη, λευκίνη, ισολευκίνη, μεθειονίνη** και **φαινυλαλανίνη**) προσλαμβάνονται αργά καθ' όλη τη διάρκεια της ζύμωσης.
- Μετά την αρχική αντίδραση της **τρανσαμίνωσης** (Σχήμα), το προκύπτον **α-κετοξύ** δεν μπορεί να ανακατευθυνθεί στον κεντρικό μεταβολισμό του C. Πριν τα α-κετοξέα εκκριθούν στο θρεπτικό μέσο, τα κύτταρα του ζυμομύκητα τα μετατρέπουν σε ανώτερες αλκοόλες ή οξέα μέσω της οδού Ehrlich.
- Το τρέχον επιστημονικό ενδιαφέρον για την οδό Ehrlich υποστηρίζεται από την αυξημένη ζήτηση για φυσικές αρωματικές ενώσεις, όπως η **ισοαμυλική αλκοόλη** και η **2-φαινυλαιθανόλη**, οι οποίες μπορούν να παραχθούν από αμινοξέα μέσω διεργασιών βιομετατροπής από ζυμομύκητες, καθώς και από την ανάγκη ελέγχου του αρωματικού προφίλ των ζυμωμένων προϊόντων.

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Ανώτερες αλκοόλες (ζυμέλαια)

Ehrlich Pathway: Aromatic Fusel Alcohols



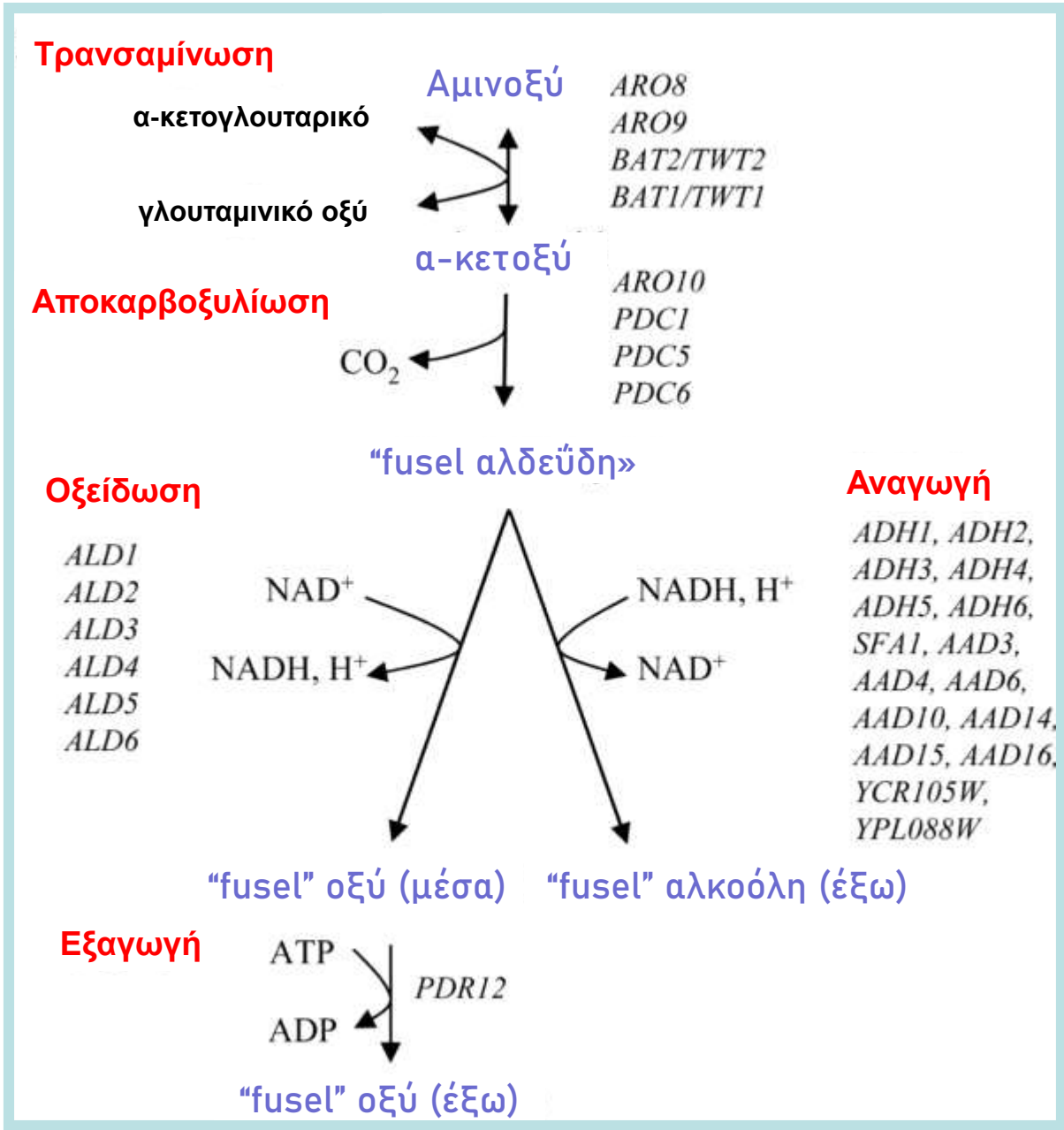
- **Τρανσαμίνωση:** ένζυμα (τρανσαμινάσες μετατρέπουν αμινοξέα σε **α-κετοξέα**
- **Αποκαρβοξυλίωση**: ένζυμα (αποκαρβοξυλάσες) μετατρέπουν α-κετοξέα σε **αλδεΰδες** (*fusel aldehydes*) + CO_2
- **Οξείδωση**: οι αλδεΰδες χάνουν e^- και σχηματίζουν **οξέα** (*fusel acids*)
- **Αναγωγή**: οι αλδεΰδες απορροφούν e^- και σχηματίζουν **αλκοόλες** (*fusel alcohols*)

Ανώτερες αλκοόλες (ζυμέλαια)

Hazelwood et al., 2008

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

Appl Environ Microbiol 74.
https://doi.org/10.1128/AEM.00934-08



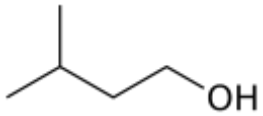
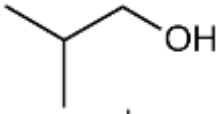
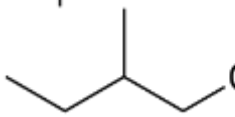
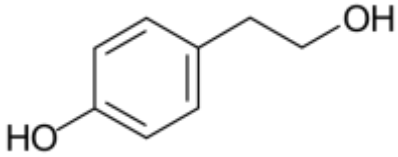
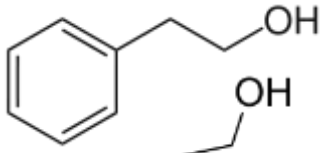
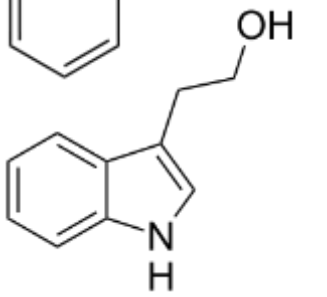
Ανώτερες αλκοόλες (ζυμέλαια)

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Ενδιάμεσα προϊόντα της οδού Ehrlich[a]

Αμινοξύ	Α-Κετοξύ		Αλδεΰδη Fusel		Αλκοόλη Fusel		Οξύ Fusel	
	Συστηματική	Κοινή	Συστηματική	Κοινή	Συστηματική	Κοινή	Συστηματική	Κοινή
Leu	4-Μεθυλ-2-οξο-πεντανοϊκό	α-Κετο-ισοκαπροϊκό	3-Μεθυλο-βουτανάλη	Ισοαμυλική αλδεΰδη	3-Μεθυλο-βουτανόλη	**Ισοαμυλική αλκοόλη**	3-Μεθυλο-βουτανικό	Ισοβαλερικό
Val	3-Μεθυλ-2-οξο-βουτανικό	α-Κετο-ισοβαλερικό	2-Μεθυλο-προπανάλη	Ισοβουτανάλη ή ισοβαλερ-αλδεΰδη	2-Μεθυλο-προπανόλη	**Ισοβουτανόλη**	2-Μεθυλο-προπανικό	Ισοβουτυρικό
Ile	3-Μεθυλ-2-οξο-πεντανοϊκό	α-Κετο-μεθυλβαλερικό	2-Μεθυλο-βουτανάλη	Μεθυλο-βαλεραλδεΰδη	2-Μεθυλο-βουτανόλη	**Ενεργή αμυλική αλκοόλη**	2-Μεθυλο-βουτανικό	Μεθυλο-βαλερικό
Phe	3-Φαινυλ-2-οξο-προπιονικό	Φαινυλοπυρο-σταφυλικό	2-Φαινυλ-αιθανάλη	2-Φαινυλ-ακεταλδεΰδη	2-Φαινυλ-αιθανόλη	**2-Φαινυλ-αιθανόλη**	2-Φαινυλ-αιθανικό	2-Φαινυλοξικό
Tyr	3-(4-Υδροξυ-φαινυλ)-2-οξοπροπιονικό	p-Υδροξυ-φαινυλοπυρο-σταφυλικό	2-(4-Υδροξυ-φαινυλ)-αιθανάλη	p-Υδροξυ-φαινυλ-ακεταλδεΰδη	2-(4-Υδροξυ-φαινυλ)-αιθανόλη	**p-Υδροξυ-φαινυλαιθανόλη ή τυροσόλη**	2-(4-Υδροξυ-φαινυλ)-αιθανικό	p-Υδροξυ-φαινυλοξικό
Trp	3-(Ινδόλ-3-υλ)-2-οξοπροπιονικό	3-Ινδολπυρο-σταφυλικό	2-(Ινδόλ-3-υλ)-αιθανάλη	3-Ινδολυλ-ακεταλδεΰδη	2-(Ινδόλ-3-υλ)-αιθανόλη	**Τρυπτοφόλη**	2-(Ινδόλ-3-υλ)αιθανικό	—
Met	4-Μεθυλοθειο-2-οξοβουτανικό	α-Κετο-γ-(μεθυλοθειο)-βουτυρικό	3-(Μεθυλο-θειο)-προπανάλη	Μεθιονάλη	3-(Μεθυλο-θειο)-προπανόλη	**Μεθειονόλη**	3-(Μεθυλο-θειο)-προπανικό	—

[a] Με τον όρο *fusel aldehyde* αναφέρεται η αλδεΰδη που σχηματίζεται μετά την αποκαρβοξυλίωση του α-κετοξέος που προέρχεται από το αντίστοιχο αμινοξύ. Αντίστοιχα, οι όροι *fusel alcohol* και *fusel acid* δηλώνουν την ένωση που προκύπτει από την αναγωγή ή την οξείδωση της fusel αλδεΰδης στην αντίστοιχη αλκοόλη ή οργανικό οξύ.

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

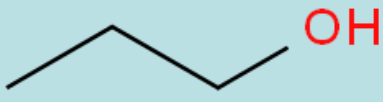
Ανώτερες αλκοόλες και αμινοξέα από τα οποία προέρχονται	Δομή
Ισοαμυλική Αλκοόλη (3-μεθυλ-1-βουτανόλη): από τη Λευκίνη (Leu).	
Ισοβουτυλική αλκοόλη (2-μεθυλ-1-προπανόλη): από τη Βαλίνη (Val).	
Ενεργή Αμυλική Αλκοόλη (2-μεθυλ-1-βουτανόλη): από την Ισολευκίνη (Ile).	
Τυροσόλη (4-Υδροξυφαινυλαιθανόλη): (μη πτητική) από την Τυροσίνη (Tyr).	
2-Φαινυλαιθανόλη (PEA): από τη Φαινυλαλανίνη (Phe).	
Τρυπτοφόλη: (μη πτητική) από την Τρυπτοφάνη (Trp).	
Μεθειονόλη: από τη Μεθειονίνη (Met).	

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Ανώτερες αλκοόλες (πτητικές) που βρίσκονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα προϊόντα ζύμωσης

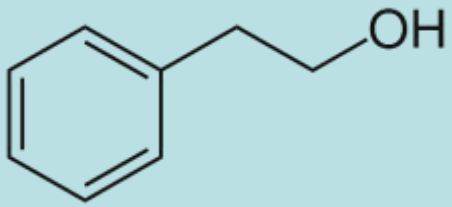
- **προπυλική αλκοόλη** (1-προπανόλη), 10-50 mg/L
- **ισοβουτυλική αλκοόλη** (2-μέθυλο-1-προπανόλη), 20-150 mg/L
- **2-Φαινυλαιθανόλη**, 10-50 mg/ανθώθης, τριαντάφυλλο
- **Μεθειονόλη**, 0.05-2 mg/L

$CH_3[CH_2]_2OH$



$(CH_3)_2(CH_3)_2CHCH_2OH$

$Ph-[CH_2]_2OH$



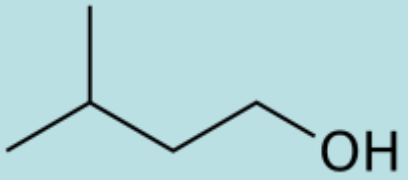
$CH_3S[CH_2]_3OH$

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

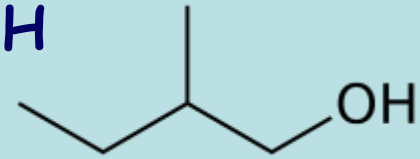
Ανώτερες αλκοόλες (πτητικές) που βρίσκονται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στα προϊόντα ζύμωσης

- **αμυλικές αλκοόλες,** 60-300 mg/L (Μπανάνα)
  - ✓ **ισοαμυλική αλκοόλη** (3-μέθυλο-βουτανόλη-1)
  - ✓ **αμυλική αλκοόλη** (2-μέθυλο-βουτανόλη-1)
- **εξανόλη-1,** 0.5-8 mg/L

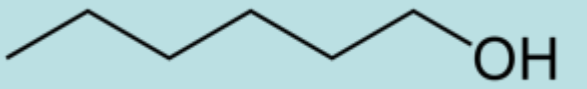
$(CH_3)_2CH[CH_2]_2OH$



$CH_3CH_2CH(CH_3)CH_2OH$



$CH_3[CH_2]_5OH$



Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Ανώτερες αλκοόλες (ζυμέλαια)

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 και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Ανώτερες αλκοόλες (ζυμέλαια)

- 80% των ανώτερων αλκοολών παράγονται κατά την πρωτογενή ζύμωση

- Οσμή (off-flavour)
  - **"alcoholic"**
  - **"spicy"**
  - **"hot"**
  - **"solvent-like"**

Π.χ. Αλκοόλες σε απόσταγμα οίνου από σταφίδα με ανάλυση GC-MS

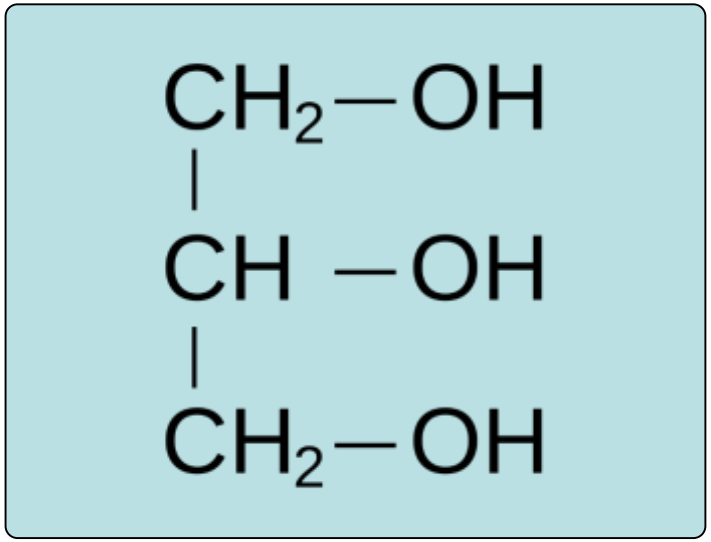
Alcohols	Περιγραφή αρώματος
1-Propanol	Alcohol, mould, yeast, fruity, fusel, nuts
2-Methyl-1-propanol (isobutanol)	Ethereal, wine, fusel, whiskey
1-Butanol	Fusel, oily, balsamic, whiskey, banana
3-Methyl-1-butanol (isoamyl alcohol)	Fusel, oily, fruity, whisky, banana, cognac, fermentation
3-Methyl-3-buten-1-ol (isoprenol)	Sweet, fruity
1-Pentanol	Caustic, fermentation, bread, fusel, wine, balsamic
4-Methyl-1-pentanol (isohexyl alcohol)	Nuts
3-Methyl-1-pentanol	Fusel, cognac, whisky, wine, cocoa
1-Hexanol	Caustic, ethereal, fusel, fruity, alcohol, oily
3-Ethoxy-1-propanol (propylene glycol 3-ethyl ether)	Fresh, floral, oily, fruity, citrus
(Z)-3-Hexen-1-ol	Oily, spicy, fresh, herbal, grassy
3-Octanol	Earthy, citrus, mushroom, mould, melon, herbal, woody, spices
2-Octanol	Fresh, woody, spices, earthy, herbal, banana
1-Octen-3-ol	Mushroom, earthy, oily, chicken, herbal, umami
1-Heptanol	Mould, woody, violet, oily, nuts, fermentation, leafy
2-Ethyl-1-hexanol	Citrus, fresh, floral, fruity, oily
2-Nonanol	Waxy, creamy, cheese, fruity, mould, citrus
2,3-Butanediol isomer 1	Odourless, fruity, creamy, buttery
1-Octanol	Waxy, citrus, aldehydic, rose, coconut
(E)-2-Octen-1-ol	Green, citrus, vegetables, fatty, oily, fruity
2-Furanmethanol (Furfuryl alcohol)	Sulphurous, sweet, mould, caramel, bread, coffee, burnt
1-Nonanol	Fresh, fatty, rose, orange, aldehydic, spices, floral, citrus
3-(Methylthio)-1-propanol (methionol)	Phosphorus, onion, soup, garlic, salty
1-Decanol	Sweet, fatty, waxy, floral, orange, citrus
Phenylmethanol (benzyl alcohol)	Floral, rose, phenolic, fruity, cherry, almond, balsamic, bitter
2-Phenylethanol (phenylethyl alcohol)	Floral, rose, bread, honey, fresh
1-Dodecanol (lauryl alcohol)	Earthy, waxy, fatty, honey, coconut, coriander
1-Tetradecanol (myristyl alcohol)	Fruity, waxy, coconut, iris
1-Hexadecanol (cetyl alcohol)	Waxy, fatty, floral, oily

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

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 SO_2

(*Scanes et al. S. Afr. J. Enol. Vitic., 19, 1, 1998*)



Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

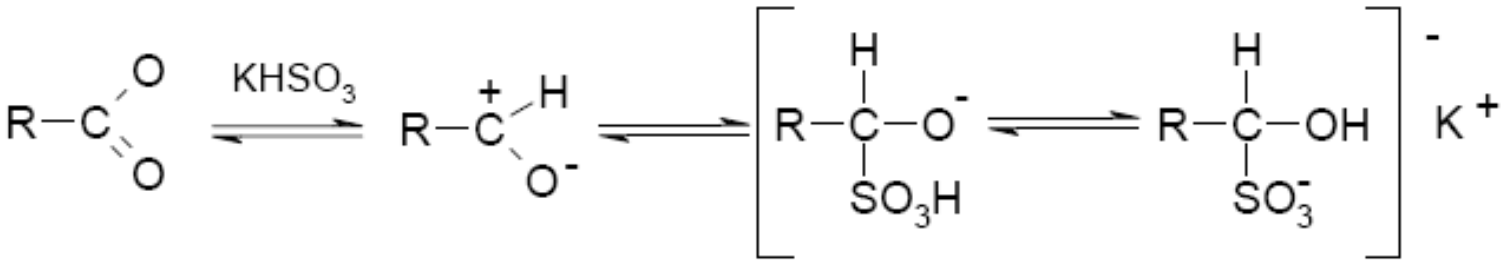
Γλυκερόλη

- 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 και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Ακεταλδεΰδη

- 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 και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

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:

$$CH_3COSCoA + CH_3CH_2OH \leftrightarrow CH_3COOCH_2CH_3 + CoASH$$

ΑΚΕΤΥΛΟΣΥΝΕΝΖΥΜΟ Α — ΑΙΘΑΝΟΛΗ — ΟΞΙΚΟΣ ΑΙΘΥΕΣΤΕΡΑΣ — ΣΥΝΕΝΖΥΜΟ Α

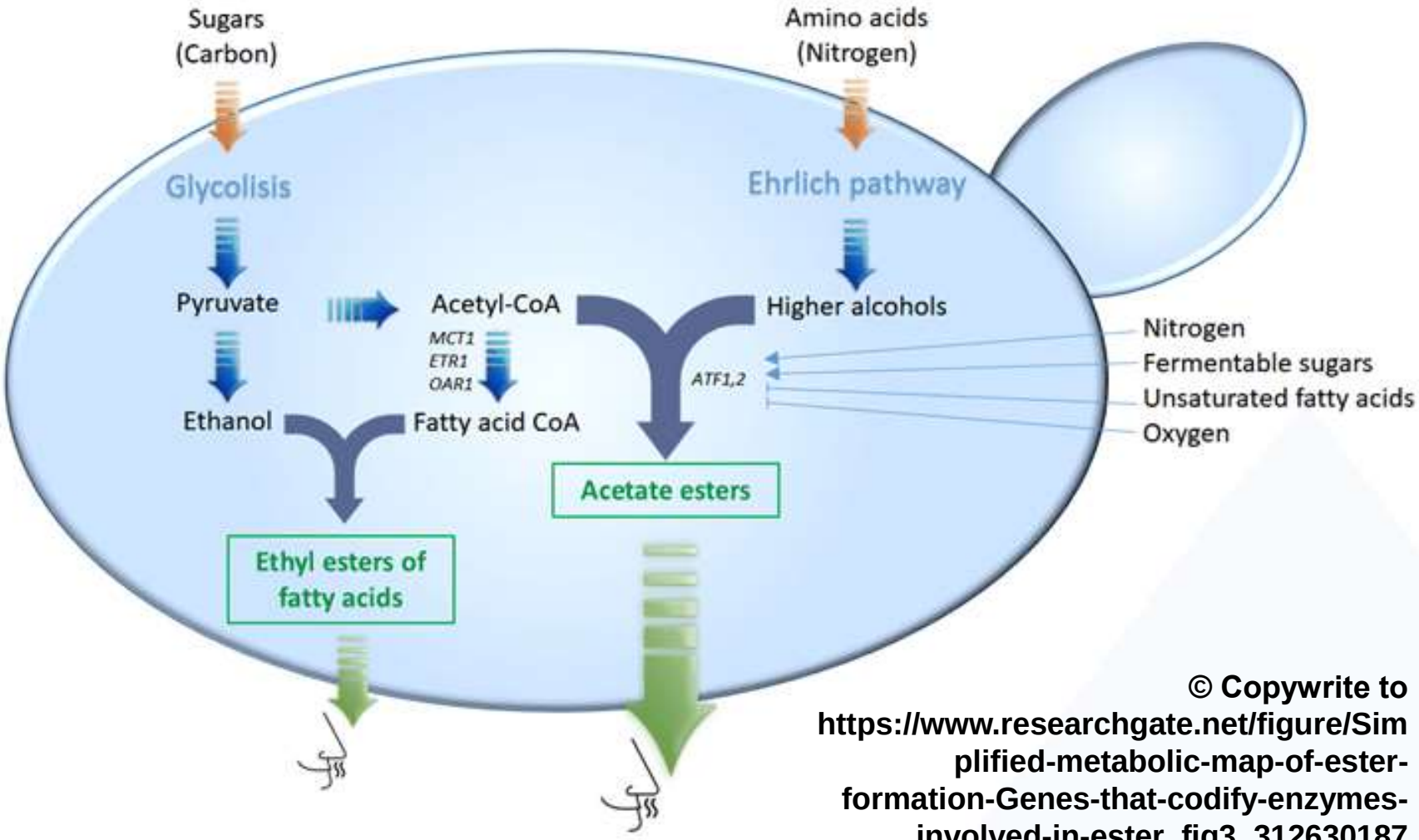
Γενικά:

$$R\text{-}COSCoA + R_1\text{-}OH \leftrightarrow RCOOR_1 + CoASH$$

ΑΚΥΛΟΣΥΝΕΝΖΥΜΟ Α — ΑΛΚΟΟΛΗ — ΕΣΤΕΡΑΣ

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Εστέρες



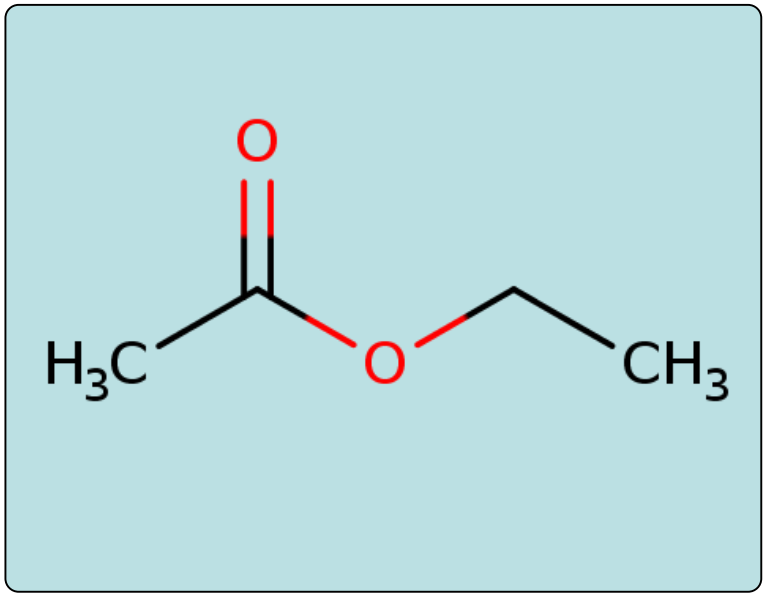
Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

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 "φρουτώδες" άρωμα ή άρωμα "ανθέων"

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Εστέρες



- Κυριότερος εστέρας στους οίνους είναι ο **οξικός αιθυλεστέρας**
$CH_3–COO–CH_2–CH_3$
(≤200 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

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Οξέα στον οίνο

Πτητικά οξέα
(απόσταξη με υδρατμούς: πτητική οξύτητα)

- **Οξικό** CH_3COOH
- **Γαλακτικό** $CH_3CH(OH)COOH$
- **Μυρμηκικό** $HCOOH$
- **Προπανικό** CH_3CH_2COOH
- **Βουτανοϊκό** $CH_3CH_2CH_2COOH$

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

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***»

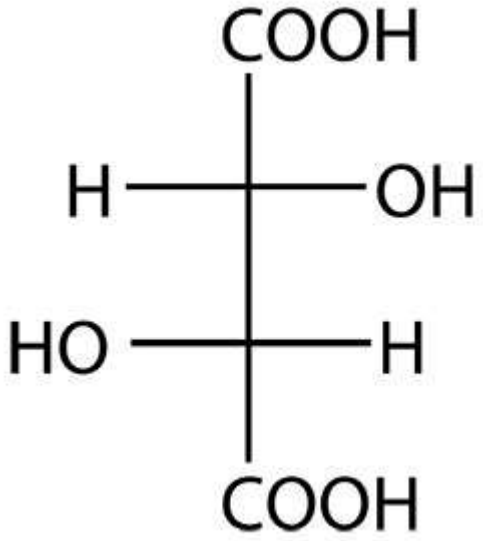
Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Οξέα στον οίνο

Μη Πτητικά οξέα
(δεν αποστάζουν με υδρατμούς)

- **τρυγικό**

HOOC-CH(OH)-CH(OH)-COOH



φυσικό ισομερές:
L-(+)- ή (2S,3S)-τρυγικό οξύ

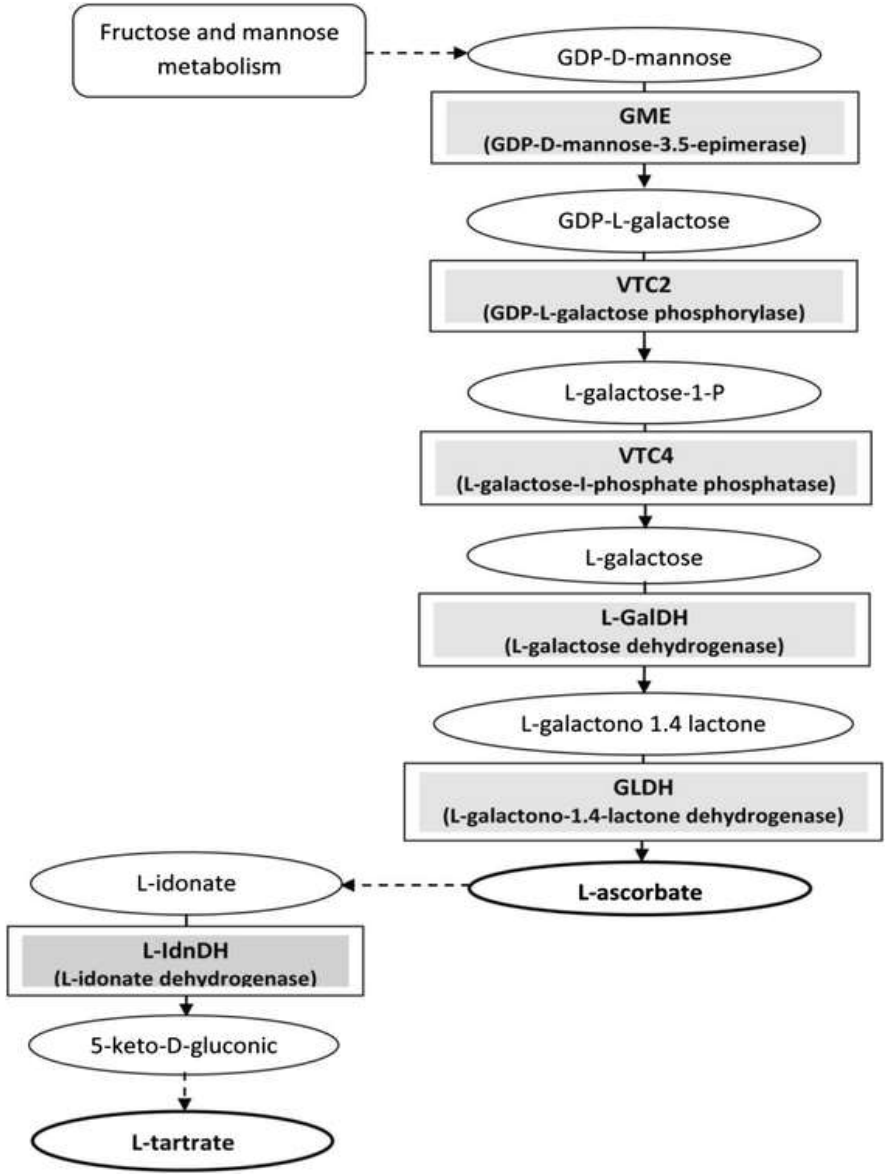
Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Οξέα στον οίνο

Μη Πτητικά οξέα
(δεν αποστάζουν με υδρατμούς)

- **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

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

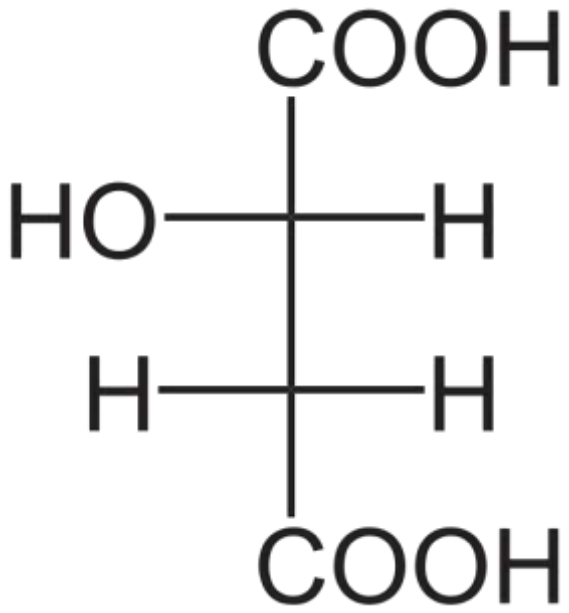
Οξέα στον οίνο

Μη Πτητικά οξέα
(δεν αποστάζουν με υδρατμούς)

- **μηλικό**

$HOOC\text{-}CH_2\text{-}CH(OH)\text{-}COOH$

φυσικό ισομερές:
L-μηλικό οξύ

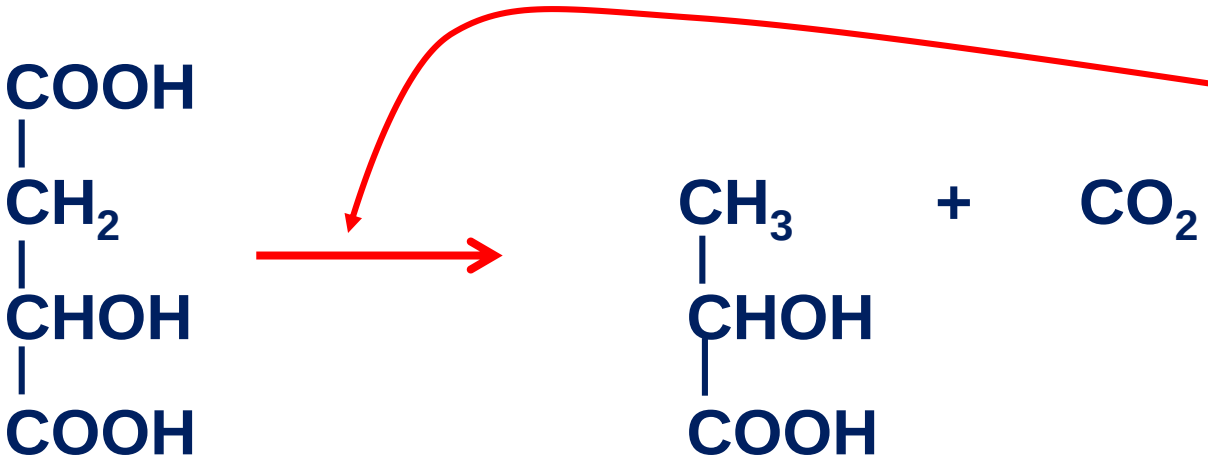


Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Οξέα στον οίνο

Μη Πτητικά οξέα

Μηλικό οξύ - Μηλογαλακτική ζύμωση



Γαλακτικά βακτήρια:
Oenococcus
Pediococcus
Lactobacillus
Leuconostoc

Μηλικό οξύ
Δικαρβοξυλικό οξύ
2 διαθέσιμα H+
για διάσταση

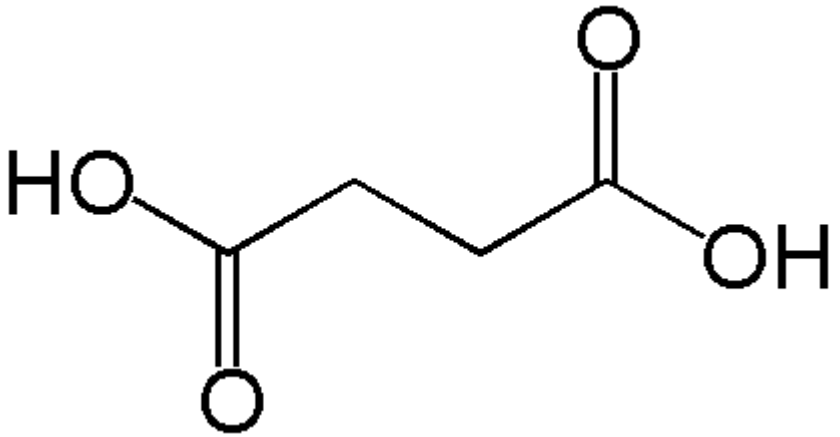
Γαλακτικό οξύ
Μονοκαρβοξυλικό οξύ
1 διαθέσιμο H^+ για διάσταση
(βελτίωση οργανοληπτικού χαρακτήρα οίνου, ειδικά εμφιαλωμένου)

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Οξέα στον οίνο

Μη Πτητικά οξέα
(δεν αποστάζουν με υδρατμούς)

- **Ηλεκτρικό** $HOOC\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}COOH$



Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Οξέα στον οίνο

Μη Πτητικά οξέα
(δεν αποστάζουν με υδρατμούς)

- παρεμποδίζουν την ανάπτυξη βακτηρίων

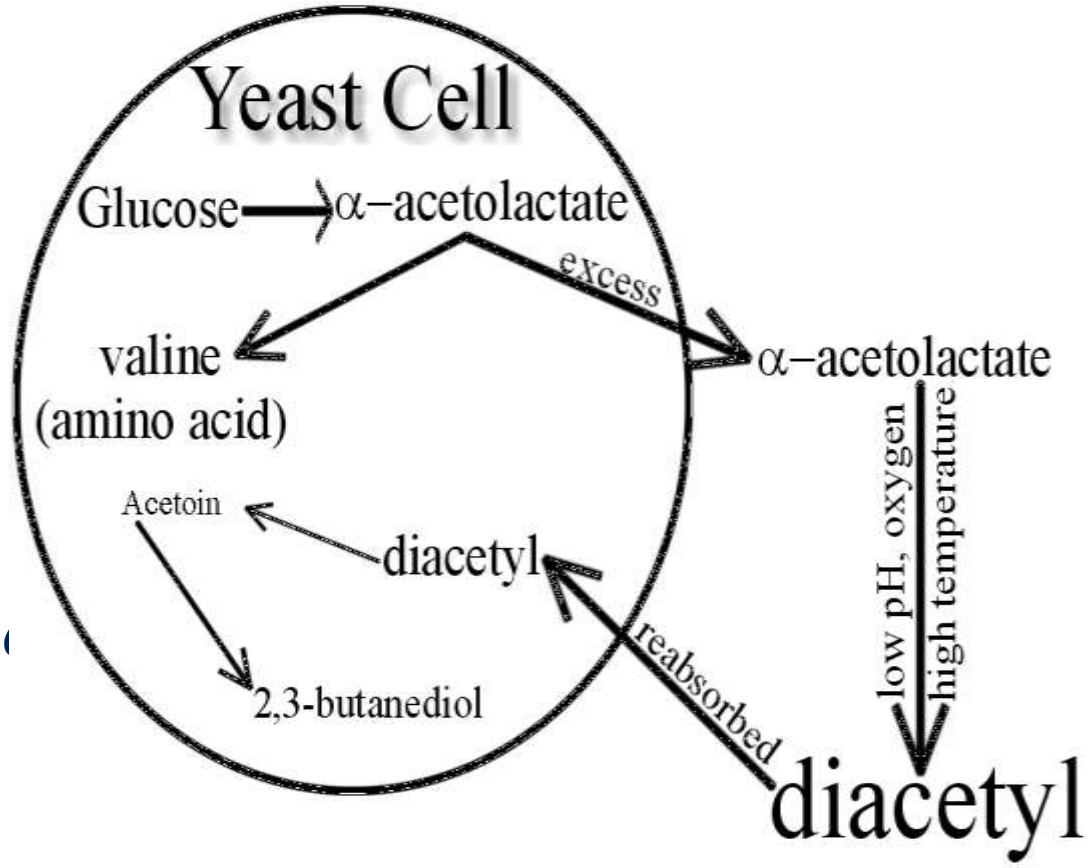
- διόρθωση οξύτητας στο γλεύκος (**6-8 g/l τρυγικού**) για καλή συντήρηση του κρασιού χωρίς να αλλοιώνεται ο οργανοληπτικός του χαρακτήρας

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Δικετόνες

Δικετύλιο & 2,3-πεντανοδιόνη

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



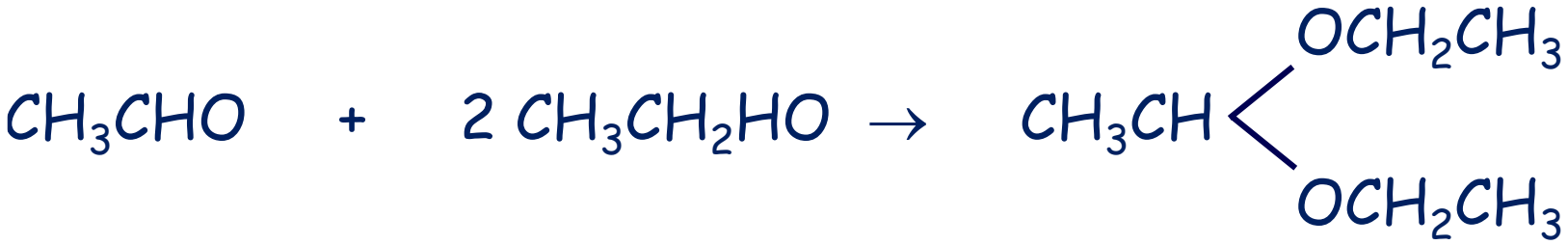
Κατώφλι αντίληψης (threshold):
0.10-0.15 mg/L

Ανώτατο επιθυμητό όριο στις μπύρες:
1 mg/L

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

Ακετάλες, $R_2C(OR')_2$

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



Ακεταλδεΰδη αιθανόλη ακετάλη

- στους οίνους: ~ 5 mg/l

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά

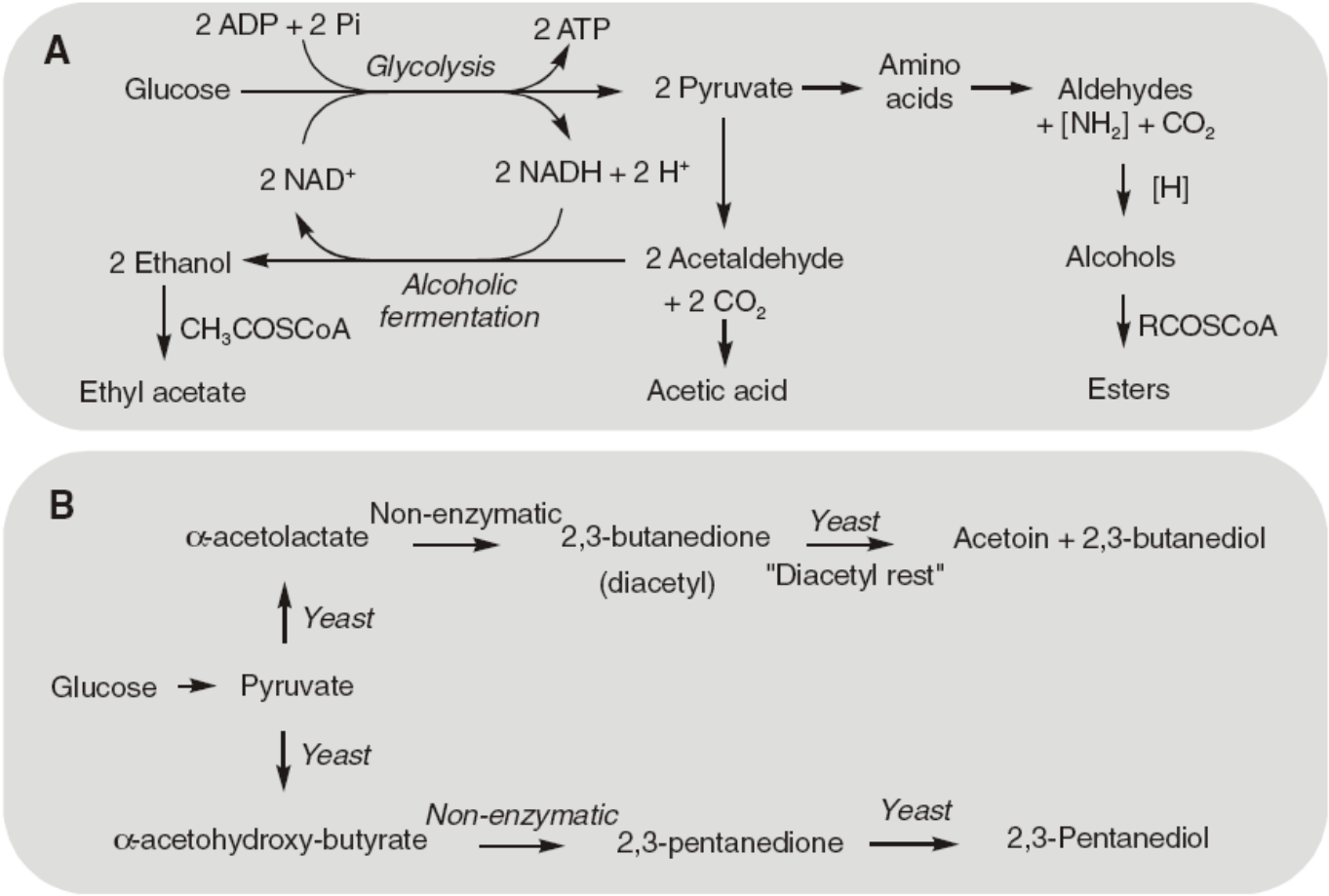
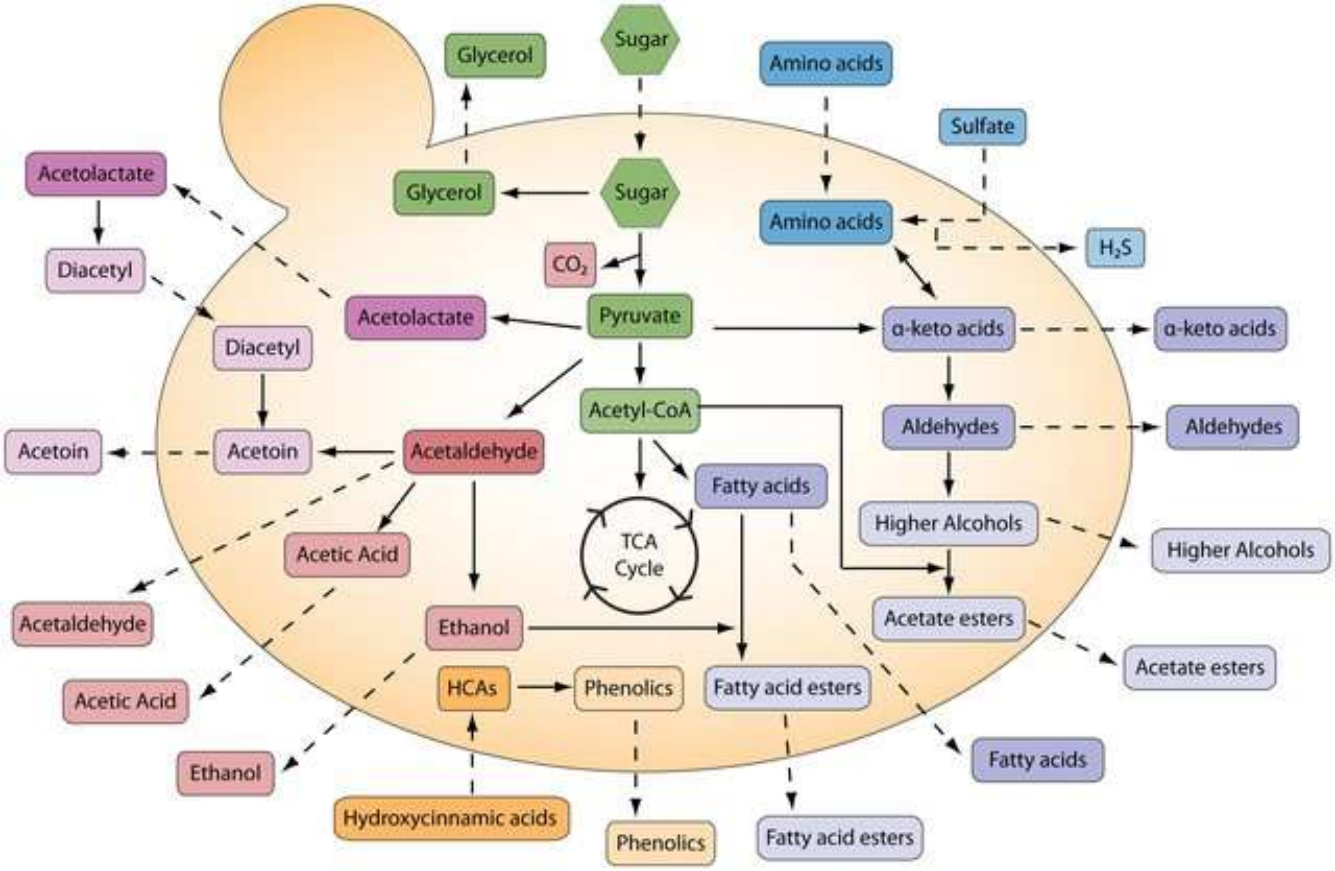


Fig. 2. Pathways involved in the formation and metabolism of the major volatiles during alcoholic fermentation: alcohols, aldehydes and esters (A) and vicinal diketones (B).

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.*

Παραπροϊόντα αλκοολικής ζύμωσης και πτητικά συστατικά στα αλκοολούχα ποτά



Επιπλέον, οι **φαινολικές ενώσεις** προέρχονται από μόρια που βρίσκονται στο υπόστρωμα/μέσο (πορτοκαλί). Οι ενώσεις που εμφανίζονται σε πιο σκούρες αποχρώσεις θεωρούνται ενδιάμεσα, ενώ οι πιο ανοιχτές αποχρώσεις αντιπροσωπεύουν ενώσεις αρώματος.

Οι ------ υποδεικνύουν εισαγωγή/εξαγωγή ενώσεων, ενώ οι —— δείχνουν βιοχημικές αντιδράσεις (χωρίς να υποδηλώνουν τον αριθμό των επιμέρους σταδίων).

Επισκόπηση της παραγωγής αρωματικών ενώσεων

Η βασική ζύμωση του **πυροσταφυλικού** (**pyruvate**)(πράσινο/κόκκινο) οδηγεί σε διάφορες ενώσεις συμπεριλαμβανομένης της αιθανόλης και του CO_2. Το πυροσταφυλικό εμπλέκεται επίσης στη βιοσύνθεση αμινοξέων, οδηγώντας στην παραγωγή **δικετονών** (ροζ). Ο μεταβολισμός των **αμινοξέων** είναι υπεύθυνος για πολλές αρωματικές ενώσεις, όπως οι **ανώτερες αλκοόλες** και οι **εστέρες** (μωβ), καθώς και οι ενώσεις που περιέχουν **θείο** (μπλε).

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. Kandylis, A. Chiou, E.A. Panagopoulou, V. Dede, P. Styliara. Corinthian currants finishing side-stream: Chemical characterization, volatilome, 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 !