

**MACIEJ STANISZ, EWELINA SAPIŃSKA
KATARZYNA PIELECH-PRZYBYLSKA**

**Zakład Technologii Spirytusu i Drożdży
Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii
Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności
Politechnika Łódzka**

CHARAKTERYSTYKA ZANIECZYSZCZEŃ WYSTĘPUJĄCYCH W SPIRYTUSACH SUROWYCH

Recenzent: prof. dr hab. Józef Stanisław Szopa

Na podstawie przeglądu dostępnych publikacji opisano mechanizmy oraz przyczyny powstawania produktów ubocznych fermentacji alkoholowej, obniżających jakość spirytusów surowych. Produkty te należą do następujących grup substancji chemicznych: związki karbonylowe, kwasy karboksylowe, estry, metanol oraz alkohole wyższe. Wskazano również na czynniki, które w istotny sposób mogą wpływać na ich nadmierną koncentrację.

1. Wstęp

Proces fermentacji alkoholowej prowadzonej przy wykorzystaniu drożdży daje poza alkoholem etylowym także szereg produktów ubocznych, wpływających na jakość otrzymywanego spirytusu. W zacierze odfermentowanym występują związki lotne oraz nielotne. Substancje nielotne tworzą suchą masę zacieru, zawierającą w swym składzie, wynikającym z rodzaju i jakości przerabianego surowca, nieodfermentowane cukry, celulozę, różne związki azotowe (np. białko) oraz sole mineralne [1]. Udział procentowy suchej masy w zacierze odfermentowanym waha się w granicach 4÷11%. Spośród substancji lotnych zacieru najczęściej jest woda, tj. 77÷87%, natomiast na drugim miejscu pod względem ilościowym znajduje się alkohol etylowy, w stężeniu 7÷11%. Podczas fermentacji alkoholowej powstają również produkty uboczne, których ilość w zacierze zazwyczaj nie przekracza 1%. Dotychczas zidentyfikowano ok. 100 związków chemicznych,

przechodzących do destylatu podczas odpędzania alkoholu z odfermentowanego zacieru. Około połowy ogólnej ilości produktów ubocznych fermentacji alkoholowej stanowi gliceryna, która nie oddestylowuje, pozostając w wywarze. Produktami ubocznymi występującymi w wyższych stężeniach w zacierach odfermentowanych są: kwasy organiczne (kwas bursztynowy, octowy, mlekowy i inne), alkohole wyższe (n-propanol, izobutanol, alkohole izoamylowe i inne), małe ilości metanolu, aldehydów oraz estry [1, 2].

Podczas odpędu niektóre uboczne produkty procesu fermentacji nie przechodzą z zacieru odfermentowanego do destylatu, pozostając w wywarze. Przykładem takich związków są: gliceryna oraz niektóre kwasy, jak mlekowy. Większość produktów ubocznych fermentacji oddestylowuje jednak wraz z alkoholem i wodą w postaci mieszanin azeotropowych. W warunkach prowadzenia destylacji tworzona jest akroleina – produkt odczepienia cząsteczki wody od aldehydu 3-hydroksypropionowego, wytwarzanego przez bakterie będące wynikiem zakażenia zacierów, bądź powstającego w trakcie procesu technologicznego. Jest to substancja toksyczna, kancerogenna i jej występowanie w spirytusach jest niekorzystne oraz niebezpieczne [2, 3].

W spirytusie surowym stwierdzono obecność związków zarówno o niskiej temperaturze wrzenia, np. aldehyd octowy, jak i związków o temperaturze wrzenia dużo wyższej od temperatury wrzenia wody. Jest to możliwe, ponieważ większość produktów ubocznych fermentacji alkoholowej tworzy z wodą mieszaniny azeotropowe o temperaturze wrzenia poniżej 100°C. Niektóre z nich dają z wodą i etanolem azeotropy trójskładnikowe [2].

2. Produkty uboczne fermentacji alkoholowej

2.1. Związki karbonyłowe

W wyniku badań przeprowadzonych przez licznych autorów ustalono, że o zawartości związków karbonyłowych występujących w spirytusie surowym decyduje przede wszystkim sam proces fermentacji alkoholowej [4-9]. Na ilość tych związków w zacierze ma wpływ pH, temperatura i stężenie cukrów. Wymienione czynniki, mimo że nie oddziałują bezpośrednio na syntezę aldehydów, mogą wpłynąć na wydajność procesów enzymatycznych lub modyfikować ich końcowy etap, prowadzący przez aldehyd octowy lub aldehydy wyższe do powstania etanolu i olejów fuzlowych.

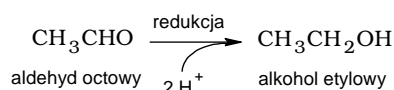
Fracja zawierająca związki karbonyłowe nadaje spirytusom często nieprzyjemny smak i aromat. Badania prowadzone przez wielu naukowców dowiodły, że w skład związków karbonyłowych występujących w spirytusie surowym i w wyrobach alkoholowych wchodzi co najmniej szesnaście różnych związków chemicznych. Są to: formaldehyd, aldehyd octowy, akroleina, aceton, aldehyd

masłowy, aldehyd izomasłowy, aldehyd propionowy, aldehyd krotonowy, 2-butanon, aldehyd walerianowy, aldehyd izowalerianowy, aldehyd kapronowy, furfural, diacetyl, acetyloaceton i glioksal [4, 10]. Poziom aldehydów wykrywanych w spirytusie surowym zależy od rodzaju i jakości surowca użytego do jego wytworzenia, przebiegu procesu parowania surowców skrobiowych, warunków scukrzania zacierów i prowadzenia fermentacji alkoholowej zacierów gorzelnicznych – między innymi od stosowanego szczepu drożdży oraz parametrów destylacji spirytusu surowego [11-14].

Spirytus żytni zawiera średnio 0,07g aldehydów/dm³ etanolu 100% obj. Podana wartość dotyczy surowca charakteryzującego się dobrą jakością. W przypadku przerobu żyta wilgotnego, porośniętego, porażonego pleśnią, uzyskany spirytus surowy zawiera często ponadnormatywne ilości aldehydów i kwasów organicznych [15-17].

Savčuk i in. [8] stwierdzili, że zwiększenie stężenia cukrów powyżej 12÷14% w podłożu fermentacyjnym prowadzi również do nadmiernej koncentracji produktów ubocznych: aldehydów, fuzli, estrów, przy jednoczesnym zmniejszeniu ilości kwasów organicznych.

Cukier ulega wieloetapowym przemianom, w wyniku których przekształcony zostaje do aldehydu octowego. Aldehyd ten pod wpływem katalitycznego działania dehydrogenazy alkoholowej zostaje zredukowany według poniższego schematu:



Rys. 1. Redukcja aldehydu octowego do etanolu

Jeżeli reakcja nie przebiegnie stechiometrycznie – a stanie się tak, gdy fermentacja zostanie przerwana lub enzym wykaże obniżoną aktywność – potencjał oksydoredukcyjny środowiska będzie sprzyjał bardziej procesom utleniania niż redukcji. W efekcie obserwuje się podwyższenie stężenia aldehydu octowego w podłożu fermentującym [18-21].

Czynnikami inaktywującym dehydrogenazę alkoholową mogą być między innymi jony metali ciężkich. Przykładem jest ołów – pierwiastek, który w wysokich koncentracjach występuje w surowcach uprawianych w pobliżu dróg o wysokim natężeniu ruchu. Spirytusy z takich surowców zawsze charakteryzuje podwyższona zawartość aldehydu octowego [22, 23]. Ołów ponadto wykazuje tendencję do kumulowania w komórkach drożdżowych. Przy przetwarzaniu surowców, które przypuszczalnie zawierają dużą ilość tego metalu, celowa jest częsta wymiana drożdży. Według niemieckich badań dobre efekty daje także kąpiel drożdży w kwasie [24, 25]. Zabieg taki ma powodować obniżenie zawartości metali ciężkich w drożdżach o ponad 80%, a ponieważ daje jeszcze inne znane technologom

pozytywne efekty, zalecany jest do okresowego stosowania zawsze wtedy, kiedy tylko istnieje jakiegokolwiek podejrzenie zaburzenia optymalnej aktywności drożdży.

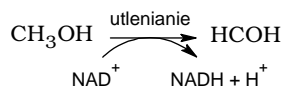
Enzymy cyklu przemiany węglowodanów na alkohol reagują negatywnie nie tylko na nadmiar pewnych substancji lub jonów, ale również na niedobór niektórych z nich. Udowodniono np. katalityczne działanie jonów magnezu na przebieg fermentacji, którego niedobór może utrudniać fermentację i prowadzić między innymi do nadmiernego gromadzenia aldehydów w środowisku fermentowanym.

Istnieje wiele odmian drożdży z gatunku *Saccharomyces cerevisiae*, różniących się między innymi zdolnością i skłonnością do tworzenia aldehydów. Typowe drożdże gorzelnicze, pochodzące z wyspecjalizowanych placówek naukowych, w normalnych warunkach wytwarzają tylko niewielkie ilości aldehydów, podczas gdy w cieczach fermentowanych przez drożdże piekarskie czy winiarskie, ilość aldehydów może znacznie przekraczać wymagania odbiorców spirytusu [6, 26]. Na zawartość aldehydów w spirytusie wpływ ma także dawka stosowanych drożdży. Jak wykazały badania [27], zbyt duża ilość drożdży powodowała nawet 3-krotne zwiększenie sumy aldehydów w stosunku do prób, do których wprowadzono tylko normatywną dawkę. Istnieją również dowody na wytwarzanie aldehydów przez pewne grupy bakterii [27].

Aldehydy obecne w spirytusie to również wynik utleniania alkoholi. Na przykład produktem utlenienia alkoholu etylowego jest aldehyd octowy, natomiast alkoholu metylowego – aldehyd mrówkowy (rys. 2 i 3).



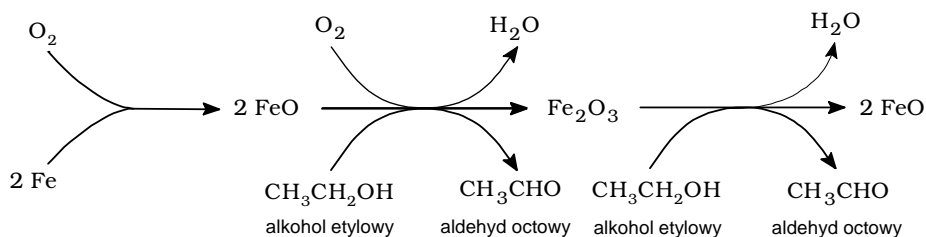
Rys. 2. Utlenienie alkoholu etylowego do aldehydu octowego



Rys. 3. Utlenienie alkoholu metylowego do aldehydu mrówkowego

Procesowi utleniania podlegają ponadto alkohole zawierające w swoim szkieletcie więcej niż dwa atomy węgla, czego efektem są aldehydy: propionowy, akrylowy, krotonowy, izomasłowy, kapronowy itp. [27]. W praktyce alkohole utleniane są w czasie wzmożonego kontaktu z tlenem lub tlenkami metali. Należy zatem unikać napowietrzania zacierów, szczególnie w późniejszych fazach fermentacji, gdy w nastawie znajduje się już alkohol, a także podczas pompowania ich do innej kadzi w sposób kontaktujący ciecz z powietrzem, a także włączania powietrza do zacierów fermentowanych w celu ich wymieszania.

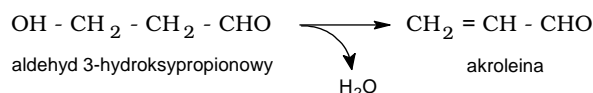
Gotowy spirytus powinien być przechowywany w naczyniach nieżardzewiających wewnątrz. Stwierdzono bowiem, że obecność rdzy w zbiornikach spirytusu może być przyczyną nawet sześciokrotnego wzrostu stężenia niektórych aldehydów (rys. 4). Zjawisko to nasila się w miarę wzrostu temperatury przechowywania i wzrostu stosunku powierzchni cieczy do jej objętości [28-30].



Rys. 4. Utlenianie alkoholu etylowego do aldehydu octowego, katalizowane tlenkami żelaza (II) i (III)

Aldehydy występujące w spirytusach surowych, z wyjątkiem akroleiny, mają charakter przedgonowy. Zatem przy prawidłowo prowadzonym procesie rektyfikacji z łatwością mogą być oddzielone od etanolu [27, 21].

Wśród aldehydów szczególną rolę spełnia akroleina – aldehyd akrylowy, propenal o wzorze sumarycznym $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}$. Jest substancją o właściwościach silnie rakotwórczych, podrażnia oczy i drogi oddechowe. Ze względu na niską temperaturę wrzenia $52,69^\circ\text{C}$ i znacznie wyższą prężność par alkoholu, jeśli znajdzie się w zacierze gorzelnicznym nie da się z niego oddzielić i destylując razem z alkoholem w całości przechodzi do spirytusu, wyraźnie obniżając jego jakość. Akroleina nie jest produktem metabolizmu drożdży, a więc nie jest ubocznym produktem fermentacji alkoholowej. Butzke i Misselhorn [31] obecność akroleiny w spirytusach surowych tłumaczą odzepieniem cząsteczki H_2O od aldehydu 3-hydroksypropionowego podczas destylacji zacieru odfermentowanego (rys. 5).



Rys. 5. Powstawanie akroleiny z aldehydu 3-hydroksypropionowego

Aldehyd 3-hydroksypropionowy, uznany za prekursora akroleiny, powstaje w wyniku mikrobiologicznego zakażenia cieczy fermentujących bakteriami przetrwalnikującymi oraz heterofermentatywnymi bakteriami mlekowymi.

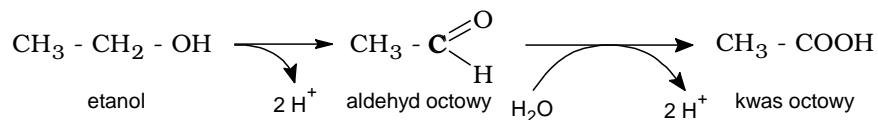
2.2. Kwasy karboksylowe

Mikroflora drożdżowa oraz przede wszystkim obce drobnoustroje, obecne w choćby nieznacznej ilości w fermentowanym podłożu, wytwarzają w procesach metabolicznych pewne ilości kwasów organicznych, głównie mlekowego, octowego, a sporadycznie masłowego [32].

Przy zachowaniu ostrych warunków higienicznych procesu technologicznego nie dochodzi do intensywnego rozwoju niepożądanego mikroflory i przyrost zawartości kwasów organicznych jest na tyle mały, że nie powoduje znacznego obniżenia pH środowiska. Większy spadek pH podłoża fermentacyjnego, poniżej wartości 4,3, nie jest pożądanym ze względu na niebezpieczeństwo blokowania aktywności amylolitycznej użytych preparatów enzymatycznych oraz zmniejszenie wydajności alkoholu spowodowane konkurencyjnym wykorzystaniem cukrów przez obie grupy mikroorganizmów.

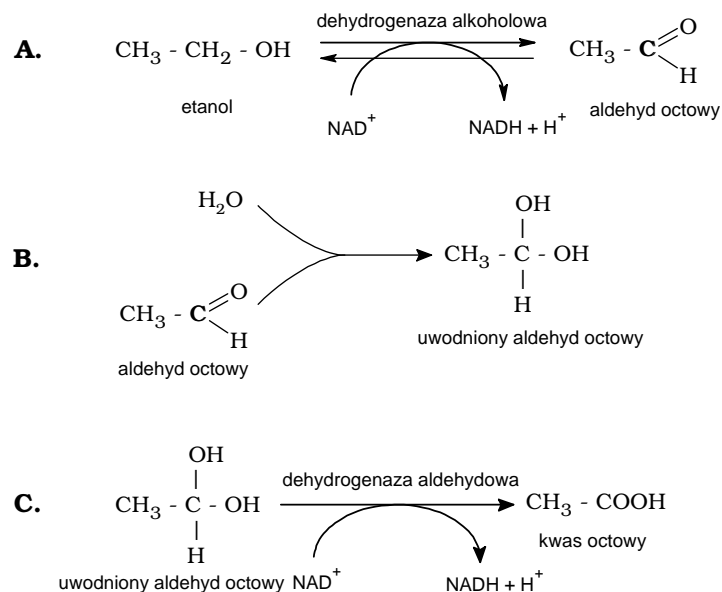
Poza kwasami wytwarzanymi przez drobnoustroje w zacierach znajduje się pewna ilość kwasu nieorganicznego stosowanego do regulacji pH zacieru i podłoża hodowlanego dla drożdży [32].

W pewnych ekstremalnych sytuacjach, np. przy odmiennym sposobie odpędu, zachodzą procesy utleniania wytworzonego etanolu do kwasu octowego. W pierwszym etapie zachodzi odwodornienie alkoholu etylowego, a następnie utlenienie wytworzonego wodoru – rys. 6 [4, 28, 33]:



Rys. 6. Reakcja utleniania etanolu do kwasu octowego

Według teorii Wielanda proces utleniania alkoholu etylowego do kwasu octowego przebiega w trzech fazach. Pośrednim związkiem w tej reakcji jest aldehyd octowy, który powstaje w pierwszej fazie reakcji, przechodząc w drugiej fazie w formę uwodnioną. Ostatecznie, poprzez enzymatyczne odwodornienie, forma uwodniona przekształcana jest w kwas octowy (rys. 7).

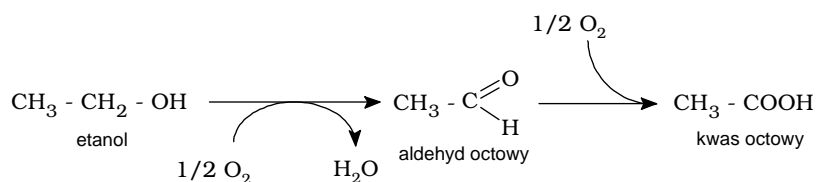


Rys. 7. Trzy fazy procesu utleniania alkoholu etylowego

A – utlenienie alkoholu etylowego do aldehydu octowego; B – uwodnienie aldehydu octowego; C – utlenienie uwodnionej formy aldehydu octowego do kwasu octowego [18, 34, 35]

Jeżeli w środowisku reakcji obecne są bakterie octowe, np. *Acetobacter xylinum*, mające w obecności alkoholu etylowego zdolność utleniania kwasu octowego do CO_2 i H_2O , wówczas nie dochodzi do nagromadzenia większych ilości tego kwasu [33].

Jednym z najważniejszych czynników warunkujących właściwy przebieg utleniania alkoholu jest obecność w środowisku reakcji odpowiedniej ilości tlenu. Reakcja przebiega wówczas zgodnie ze schematem przedstawionym na rysunku 8 [36, 37].



Rys. 8. Właściwy przebieg utleniania alkoholu etylowego do kwasu octowego

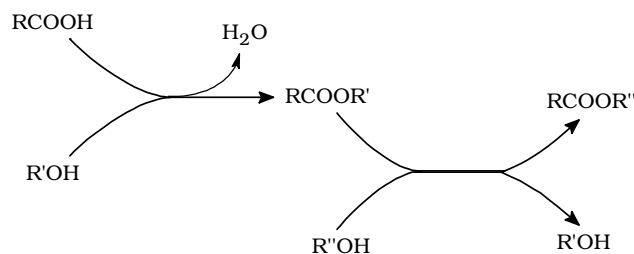
Alkohol zostaje utleniony tlenem cząsteczkowym do kwasu octowego, przy czym etapem pośrednim reakcji jest aldehyd octowy. Proces ten zachodzi w obecności mikroorganizmów z rodzaju *Acetobacter* lub drożdży kożuchujących *Mycoderma aceti* [9, 36].

Wielu autorów podaje [26, 38, 39], że skład jakościowy oraz ilościowy kwasów zanieczyszczających spirytus surowy ma wpływ na jego smak i zapach. Czynnikiem determinującym jest tu przede wszystkim zastosowany surowiec. Zapach kwasów alifatycznych o małej liczbie atomów węgla nasila się od ostrego i drażniącego, jak kwas mrówkowy i octowy, do wyraźnie nieprzyjemnego, takich jak kwas masłowy, walerianowy oraz heksanowy. Kwasy organiczne o większej liczbie atomów węgla, a więc o małej lotności, nie charakteryzują się specjalnie intensywnym zapachem [30]. Znaczącymi komponentami aromatycznymi napojów alkoholowych są następujące kwasy: kapronowy, kaprylowy, pelargonowy, laurynowy, enantowy. Zauważono, że kwasy takie, jak: laurynowy, palmitynowy, stearynowy i oleinowy, gromadzą się w drożdżach i mogą przechodzić do destylatów w większych ilościach, o ile zacierzy poddane destylacji zawierają w swoim składzie komórki drożdży [40].

Obecnie stosowane metody analityczne umożliwiają jedynie sumaryczne określenie zawartości tej grupy zanieczyszczeń, a wynik podawany jest w postaci wartości kwasowości surowych spirytusów. W wielu przypadkach brak jest korelacji pomiędzy sumarycznie oznaczonymi ilościami związków nadających spirytusom charakter kwasowy a ich właściwościami organoleptycznymi.

2.3. Estry

Obecność w środowisku fermentacyjnym alkoholi i kwasów prowadzi nieuchronnie do powstawania estrów – związków w największym stopniu wpływających na walory zapachowe spirytusów, gdyż wnoszą one bardzo atrakcyjne i oczekiwane doznania organoleptyczne. Przykładowo, ester kaprynowo-etylowy charakteryzuje przyjemny zapach koniaku, ester kapronowo-etylowy – trwały zapach owocowy, a laurynian etylu – aromat kwiatowy [41]. Stężenie estrów w spirytusach surowych zależy głównie od zastosowanego surowca, a także od użytego szczepu drożdży oraz czystości mikrobiologicznej środowiska. Istotną rolę w procesie ich tworzenia odgrywa także pH fermentowanych zacierów. Synteza estrów jest przeważnie katalizowana przez enzymy drożdży z grupy esteraz. Maksymalny przyrost ich stężenia przypada na etap fermentacji burzliwej, w wyniku reakcji estryfikacji oraz transaminacji głównie kwasów organicznych i alkoholi (rys. 9).



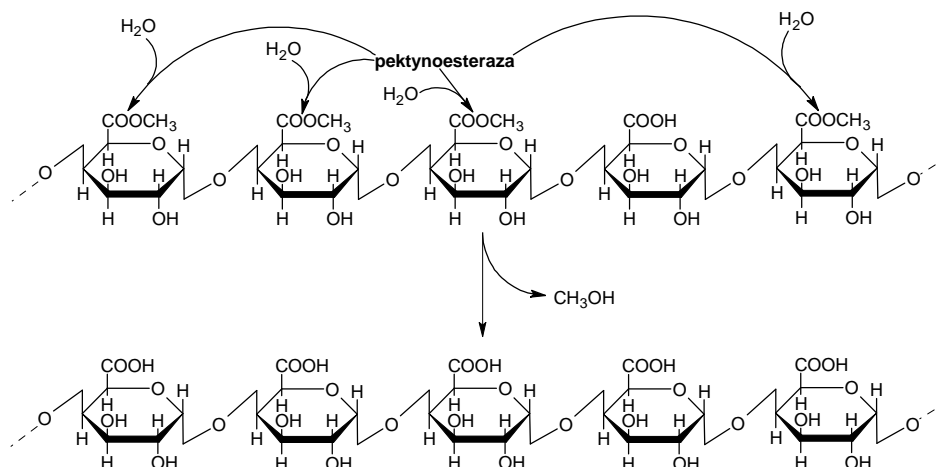
Rys. 9. Reakcje powstawania estrów z kwasów organicznych i alkoholi [41]

Zarówno estry, jak i inne produkty uboczne fermentacji alkoholowej, znajdujące się w spirytusach, są usuwane w procesie rektyfikacji. Natomiast ich poziom w spirytusach surowych, przeznaczonych do wyrobu wódek z grupy naturalnych (winiak, whisky), regulowany jest w procesie destylacji korekcyjnej [41].

2.4. Metanol

Metanol jest obecny we wszystkich destylatach rolniczych, z wyjątkiem spirytusu otrzymanego z melasy. W największych ilościach występuje w spirytusach owocowych, z kolei destylaty zbożowe odznaczają się śladowymi jego ilościami, z uwagi na fakt, że to pektyny są źródłem metanolu. Substancje pektynowe stanowią grupę strukturalnych roślinnych heteropolisacharydów, odpowiedzialnych za utrzymanie spójności tkanek. Występują głównie w przestrzeni międzykomórkowej oraz w ścianie komórek roślin. Głównym monosacharydem wchodzącym w skład substancji pektynowych jest kwas D-galakturonowy, którego reszty są w różnym stopniu zestryfikowane metanolem. Reszty te są połączone wiązaniami α -1,4-glikozydowymi w długie łańcuchy o heliakalnej strukturze.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że metanol powstaje w wyniku działania enzymu – pektynoesterazy (PE, EC 3.1.1.11) – występującego w surowcu roślinnym lub pochodzącego z preparatów enzymatycznych. Hydrolizuje on wiązania estrowe w pektynie z uwolnieniem alkoholu metylowego (rys. 10). Jest obecny w wielu roślinach oraz drobnoustrojach, a szczególnie wysoką aktywność wykazują pektynoesterazy owoców cytrusowych oraz pomidorów. Enzymy te charakteryzuje wysoka specyficzność względem zmetoksyloowanych reszt kwasu galakturonowego w pektynie. Potrafią również hydrolizować i inne wiązania estrowe, na przykład utworzone z udziałem alkoholu etylowego, czy też propylowego. Pektynoesterazy roślinne atakują cząsteczkę pektyny od redukującego końca, lub też obok wolnej grupy karboksylowej i dalej działają wzdłuż łańcucha [42].



Rys. 10. Schemat działania pektynoesterazy na cząsteczkę pektyny; powoduje ona hydrolytyczne rozszczepienie estru metylowego kwasu poligalakturonowego z wytworzeniem wolnych grup karboksylowych i alkoholu metylowego [42]

Innym źródłem obecności metanolu w spirytusie jest sposób prowadzenia obróbki termicznej surowca, ponieważ przy temperaturze 80-90°C dochodzi do częściowego zhydrolizowania substancji pektynowych, sklejących komórki oraz skoagulowania albumin znajdujących się w protoplazmie komórek. Źródłem metanolu może być także formalina, wprowadzana do zacierów w celu ochrony przed rozwojem zakażeń bakteryjnych. W tym przypadku alkohol metylowy powstaje w wyniku jej chemicznej redukcji.

Wpływ metanolu na cechy sensoryczne spirytusów jest znikomy, natomiast utworzone z jego udziałem estry nadają spirytusom owocowy zapach. Alkohol metylowy jest silną trucizną, a spożycie nawet w niewielkiej ilości powoduje silne zatrucie, mogące doprowadzić do utraty wzroku, a nawet śmierci [1, 35, 43].

2.5. Alkohole wyższe

Alkohole wyższe stanowią ostatnią z ww. grup produktów ubocznych fermentacji etanolowej, które przechodząc podczas odpędu do destylatu, obniżają jakość uzyskanych spirytusów. Skład tej frakcji jest różny i w dużej mierze zależy on od zastosowanego podłoża fermentacyjnego, rasy wykorzystanych drożdży, metody prowadzenia fermentacji oraz destylacji, a także od sposobu oddzielania olejów fuzlowych [44-47]. Występują w ilościach od 0,1 do 0,7% w stosunku do wytworzonego etanolu. W ogólnej zawartości fuzli największy udział przypada na alkohole izoamylowe (60÷80%), tj. 2-metylo-1-butanol (optycznie czynny) i 3-metylo-1-butanol (optycznie nieczynny). W mniejszej ilości występują izobutanol (15÷25%) oraz n-propanol (4÷7%). Stosunek zawartości 3-metylo-1-butanolu

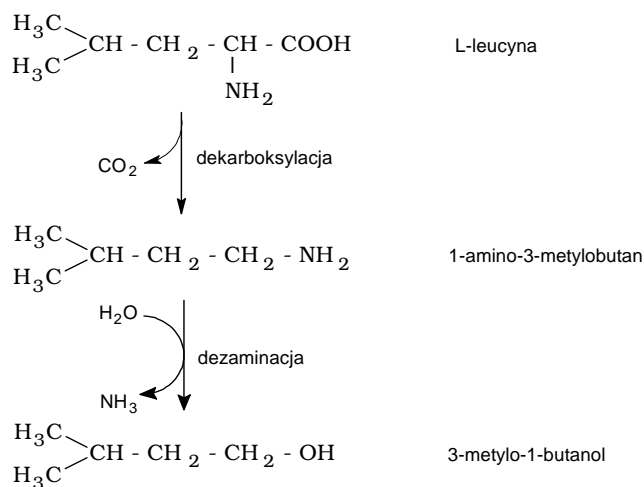
do 2-metylo-1-butanolu w spirytusie surowym, w zależności od zastosowanego surowca, kształtuje się następująco [41]:

- dla spirytusów melasowych 1,1÷1,7,
- dla spirytusów zbożowych 2,1÷3,3,
- dla spirytusów ziemniaczanych 3,7÷5,1.

Alkohole wyższe, jak i inne grupy związków chemicznych będące zanieczyszczeniami spirytusu, w nadmiernej ilości są niepożądane w produkcji wódek czystych. Stanowią natomiast cenny komponent bukietu smakowo-zapachowego wina, koniaku czy piwa. Intensywność doznań organoleptycznych jest wprost proporcjonalna do ich ciężaru cząsteczkowego. Przykładem może być aromat alkoholu izoamylowego, który jest 10 000 razy silniejszy od aromatu alkoholu metylowego. Udowodniono, że najbardziej intensywne zapachy posiadają alkohole o strukturze cyklicznej. Przykładem jest tu alkohol fenyloetylowy o zapachu róży, a także tyrozol i tryptofol, które według znawców zasadniczo kształtują bukiet zapachowy napojów alkoholowych [27].

Oleje fuzlowe są tematem badań już od 1785 roku. Ich występowanie po raz pierwszy udokumentował Scheele, podczas fermentacji zacierów skrobiowych – stąd nazwa alkoholu izoamylowego [łac. Amylum, skrobia] [48]. Pochodzenie olejów fuzlowych przez długi okres pozostawało niewyjaśnione. Przypuszczano, że są one produktem fermentacji bakteryjnej cukrów. Proces ten miał przebiegać równolegle z fermentacją etanolową.

Pierwszą teorię popartą badaniami, z początku ubiegłego wieku, zaproponował Ehrlich [49]. Według autora oleje fuzlowe powstają na skutek dekarboksylacji oraz dezaminacji egzogennych aminokwasów obecnych w środowisku fermentacyjnym (rys.11):



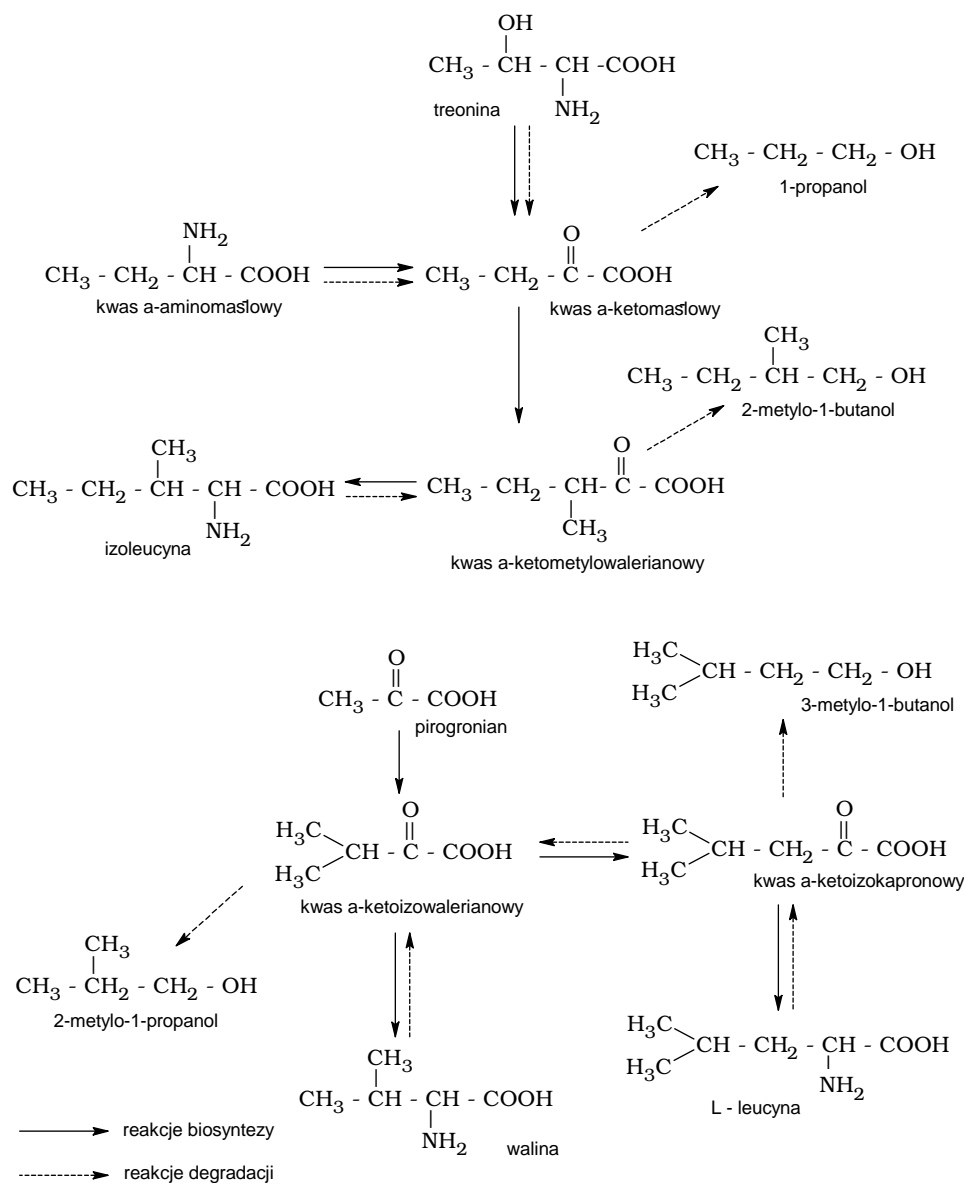
Rys. 11. Schemat syntezy 3-metylo-1-butanolu z leucyny wg teorii Ehrlich'a [50]

Ustalono, że z waliny powstaje izobutanol, z leucyny 3-metylo-1-butanol (optycznie nieczynny alkohol izoamylowy), a z izoleucyny 2-metylo-1-butanol (optycznie czynny alkohol izoamylowy).

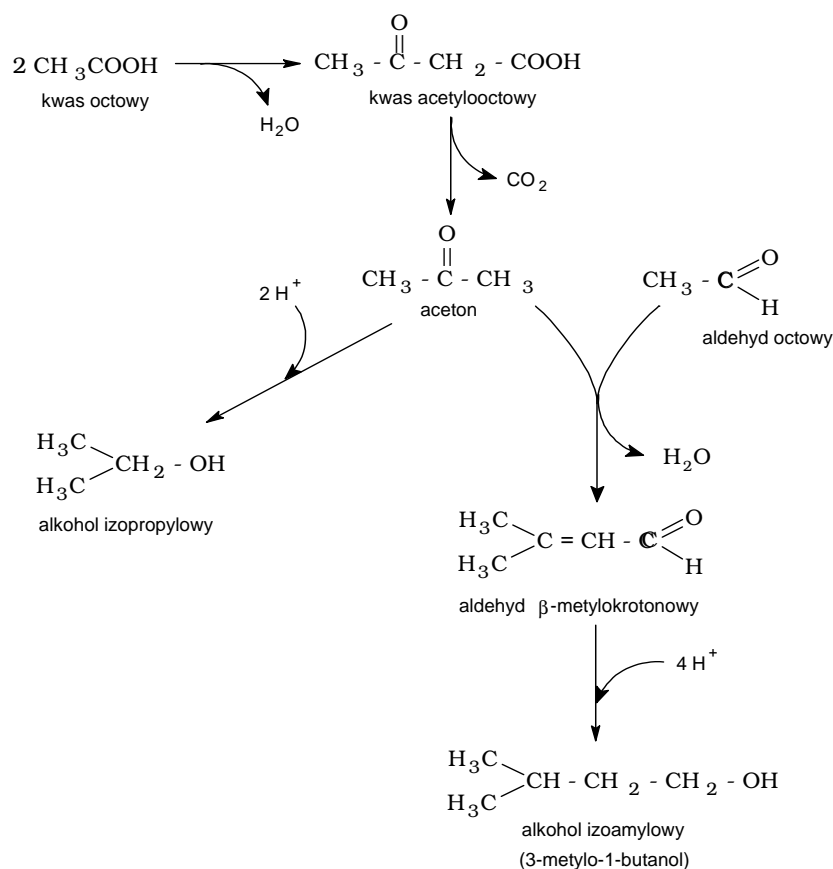
Przeprowadzone jak dotąd liczne badania doprowadziły do wysunięcia przez naukowców kilku teorii. Należy tu wymienić Ehrlich'a, Neubauer'a i Fromherz'a, Guymon'a, Sentheshanmuganathan'a, czy też Genevois'a i Lafon'a. Mianowicie ich synteza może odbywać się na drodze szlaku katabolicznego, polegającego na rozkładzie aminokwasów, lub anabolicznego, w którym alkohole wyższe to produkt uboczny w syntezie aminokwasów. Udowodniono m.in., że występowanie fuzli w destylatach rolniczych to efekt obecności w środowisku fermentacyjnym aminokwasów, cukrów oraz produktów ich przemiany, głównie aldehydów. Skojarzono biosyntezę waliny, treoniny, izoleucyny, leucyny z odpowiednimi alkoholami wyższymi: 2-metylo-1-propanolem (izobutanol), n-propanolem, 2-metylo-1-butanolem (alkohol izoamylowy optycznie czynny) oraz 3-metylo-1-butanolem (alkohol izoamylowy optycznie nieczynny). Ich synteza przebiega każdorazowo przez ketokwasy z kwasu pirogronowego i aktywnego kwasu octowego. Pirogronian, kwas α -ketomasłowy i kwas α -ketoizowalerianowy są przekształcane w odpowiednie ketokwasy: α -ketoizowalerianowy, α -ketometylowalerianowy i α -ketoizokapronowy (rys. 12). Związki te mogą być syntetyzowane na drodze transaminacji odpowiednich aminokwasów. Z kolei α -ketokwasy (i aminokwasy po uprzedniej transaminacji) degradowane są do alkoholi na drodze dekarboksylacji oraz redukcji [51].

Synteza izopropanolu i 3-metylo-1-butanolu z kwasu octowego i aldehydu octowego została przedstawiona na rysunku 13. Dwie cząsteczki kwasu octowego kondensują do kwasu acetylooctowego, który ulega dekarboksylacji do acetonu. Utworzony aceton jest związkiem wyjściowym do syntezy dwóch alkoholi wyższych. Jego uwodornienie prowadzi do powstania izopropanolu, natomiast kondensacja z aldehydem octowym warunkuje syntezę aldehydu β -metylo-krotonowego, a następnie przemianę do 3-metylo-1-butanolu [52].

Niektórzy autorzy twierdzą jednak, że część wyższych alkoholi powstaje w wyniku przemian cukrowców przez drożdże, niezależnie od występujących w środowisku aminokwasów [4, 52-55]



Rys. 12. Powstawanie wyższych alkoholi na drodze syntezy aminokwasów



Rys. 13. Synteza izopropanolu i 3-metylo-1-butanolu z kwasu octowego i aldehydu octowego

3. Podsumowanie

Proces fermentacji alkoholowej prowadzony przy wykorzystaniu specjalistycznych drożdży daje poza alkoholem etylowym szereg produktów ubocznych wpływających na jakość spirytusów. Części z nich nie można oddzielić podczas procesu destylacji, co wpływa na zanieczyszczenie destylatu. W zależności od jego przeznaczenia obecność wybranych związków może wpływać korzystnie na cechy organoleptyczne otrzymywanych wyrobów alkoholowych. Istnieje jednak grupa zanieczyszczeń, która już w śladowych ilościach może bardzo pogorszyć walory smakowo-zapachowe sporządzonych destylatów. Wzajemny stosunek stężenia poszczególnych związków stanowiących zanieczyszczenia spirytusów jest determinowany przede wszystkim rodzajem i jakością użytego do jego produkcji surowca.

Literatura

- [1] **Jarosz J., Jarociński J.:** Gorzelnictwo i drożdźownictwo, WSiP, Warszawa, (1994).
- [2] **Czupryński B., Kotarska K., Kruszczyński M.:** "Chromatograficzna analiza zanieczyszczeń chemicznych spirytusów surowych z różnych gorzelní rolniczych". VII Konferencja Chromatograficzna: Chromatografia i techniki pokrewne a zdrowie człowieka, Białystok, 85, 166, (2006).
- [3] **Wasiak M.:** Akroleina – powstawanie, występowanie i właściwości, Przem. Ferm. Owoc.–Warz., 5, 20–24, (2000).
- [4] **Goj T.:** Skład związków karbonylowych w spirytusach surowych i rektyfikowanych różnego pochodzenia surowcowego oraz ich wpływ na właściwości sensoryczne. Cz. I. Związki karbonylowe w spirytusach surowych, Przem. Ferm. Owoc.–Warz., 8-9, 6-9, (1990).
- [5] **Goj T.:** Związki karbonylowe najczęściej występujące w spirytusach i wyrobach alkoholowych, Przem. Ferm. Owoc.–Warz., 2, 5-7, (1992).
- [6] **Kłosowski G., Czupryński B.:** Przyczyny powstawania związków karbonylowych w spirytusie surowym ze szczególnym uwzględnieniem aldehydu octowego – przegląd wiadomości, Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 5, 8-10, (1993).
- [7] **Marańda D.:** Oznaczanie zanieczyszczeń organicznych w spirytusach, Przem. Ferm. Owoc.–Warz., 5, 6-8, (1989).
- [8] **Savčuk M.J., Cygankow P.S.:** Vlijanie aeracji na obrazowanie pobożnych produktom pri sbrazivanii melassy, Ferm. Spirt. Prom., 37 (1), 9-12, (1971).
- [9] **Witkowski Cz., Siudzińska M.:** Badania wstępne nad przyczynami zwiększonej zawartości aldehydów w etanolu surowym, Bydgoskie Tow. Nauk., 8, 45-48, (1974).
- [10] **Kłosowski G., Czupryński B., Kotarska K.:** Związki karbonylowe w spirytusie surltowym, Przem. Ferm. Owoc.–Warz., 7, 14-16, (1997).
- [11] **Gogulski W.:** Badanie procesu fermentacji alkoholowej, destylacji i rektyfikacji spirytusu w celu poprawy jakości spirytusu rektyfikowanego, Przem. Ferm. Owoc.–Warz., 5-6, (1998).
- [12] **Murawski Z., Górny S., Szczodrowski H.:** Wpływ regulacji czynnej zacierów na ilość i jakość spirytusu surowego, Materiały informacyjne CLPR, 1, (1977).
- [13] **Szczodrowski H., Murawski Z., Górny S.:** Charakterystyka spirytusu surowego wytwarzanego z żyta w gorzelních rolniczych, Przem. Ferm. Owoc.–Warz., 3, 1-3, (1976).
- [14] **Włodarczyk Z. i inni:** Sprawozdanie z badań, Politechnika Łódzka, Łódź, (1987).
- [15] Polska Norma. Destylat rolniczy, PN-A-79523:2002.
- [16] **Rycerska B., Zielińska K.:** Zastosowanie preparatów amyloolitycznych do upłynniania i scukrzania skrobi ziemniaczanej, Dokumentacja IPF, (1987).
- [17] **Rycerska B., Zielińska K.:** Zastosowanie preparatów amyloolitycznych do upłynniania i scukrzania skrobi ziemniaczanej, Dokumentacja IPF, (1986).
- [18] **Aiba S., Humprey A.E., Millis F.:** Inżynieria biochemiczna, WNT, Warszawa, (1970).
- [19] **Łaczyński B.:** Jakie są przyczyny ponadnormatywnej zawartości w spirytusie surowym aldehydów i jak zjawisku temu można przeciwdziałać w warunkach gorzelní rolniczej?, Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 2, 13-14, (1995).
- [20] **Pietzner S. i inni:** Zum Acrolein Problem in der Getreidebrennerei, Brannwirtschaft, 1, 6-10, (1993).

- [21] **Walter K.:** Bemerkungen zu Krel Piper, Technologische Masnahmen zur Reduzierung von Acrolein in Rohalkohol, Brannwirtschaft, 19, 311, (1993).
- [22] **Kumider J., Turek W., Wołow M.:** Charakterystyka surowych spirytusów etylowych pod względem zawartości kwasów tłuszczowych i estrów przy zastosowaniu metody chromatografii gazowej, Prace Instytutów i Lab. Bad. Przem. Spoż., 22 (2), 205-209, (1972).
- [23] **Miecznikowski A., Zielińska K.:** Wpływ gęstości zacierów gorzelnicznych na jakość spirytusu surowego (1), Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 5, 27-29, (1997).
- [24] **Schweigert G.:** Die Rektifikation von Rohalkohol unter Produktionsbedingungen In der BFB – Auss enabteilung – Reinickendor, Brannwirtschaft, 137 (5), 74-78, (1997).
- [25] **Treu H.:** Varschlage fur die Veveinfachung der turnusmassigen Sellbstkostengrungen in Brennereien, Brannwirtschaft, 134 (1), 6-7, (1994).
- [26] **Jankiel A., Miernik A.:** Dynamika powstawania produktów ubocznych w procesie fermentacji alkoholowej brzeczek melasowych, Praca dyplomowa, Inst. Techn. Ferm. i Mikrob., Łódź, 15-16, (1997).
- [27] **Bachman B., Bieńkiewicz K., Jarosz K., Włodarczyk Z.:** Technologia spirytusu i drożdży, PWN, Łódź, 1, (1958).
- [28] **Kostkowski W., Wald I. i wsp.:** Działanie biologiczne alkoholu etylowego, PWN, Warszawa 1991.
- [29] **Mastalerz P.:** Chemia organiczna, PWN, Warszawa, (1986).
- [30] **Morrison R. T., Boyd R. N.:** Chemia Organiczna, PWN Warszawa, 1, 671, 734, (1985).
- [31] **Butzke C. V., Misselhorm K.:** Zur Acrilein – Eliminierung in Rohspirt, Brannwirtschaft, 132, 354-356, (1992).
- [32] **Kłosowski G., Czupryński B., Sieliwanowicz B., Kotarska K., Wolska M.:** Charakterystyka zanieczyszczeń chemicznych obniżających jakość spirytusu surowego (2), Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 9, 37, (2003).
- [33] **Paluch J.:** Podstawy mikrobiologii przemysłowej, WNT, Warszawa, (1991).
- [34] **Fruton J. S., Simmonds S.:** Biochemia ogólna, PZWL, Warszawa, (1966).
- [35] **Kączkowski J.:** Podstawy biochemii, WNT, Warszawa, (1974).
- [36] **Chmielewska I. i in.:** Biologiczne procesy oksydoredukcyjne, PWN, Warszawa, (1953).
- [37] **Griaznov A.:** Příklad. Biochimija Mikrob., 1 (5), 529, (1965).
- [38] **Kumider J., Turek W., Wołow M.:** Badania nad zastosowaniem chromatografii gazowej do charakterystyki spirytusów surowych pod względem zawartości wolnych kwasów tłuszczowych, Pr. Inst. Lab. Bad. Przem. Spoż., 22 (1), 33-50, (1972).
- [39] **Kumider J., Turek W.:** Charakterystyka spirytusów pod względem zawartości związków karboksylowych i estrów, Roczn. techn. Ch. Żywn., 22 (2), 149-159, (1972).
- [40] **Opolska G., Drzyzga B.:** Charakterystyka związków smakowo – zapachowych destylatów owocowych i ich powstawanie, Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 6, 12-13, 16, (1991).
- [41] **Cieślak J., Losik H.:** Technologia wódek, Warszawa, (1979).
- [42] **Nowak K., Mitka K.:** Pektyny – polisacharydy pochodzenia naturalnego, Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 7-8, 69-70, (2004).
- [43] **Polska Norma. PN-93/A-79528/03 Spirytus (alkohol etylowy). Metody badań – Oznaczenie mocy wraz ze zmianą PN-A-79528-3/A1:1995.**
- [44] **Kłosowski G., Czupryński B., Kotarska K., Wolska M.:** Charakterystyka zanieczyszczeń chemicznych obniżających jakość spirytusu surowego (2), Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 9, 37-38, (2003).

- [45] **Kłosowski G., Czupryński B., Sieliwanowicz B., Kotarska K., Wolska M.:** Monitoring of sugar substrates utilization by D-2 and As-4 yeasts and kinetics of by-products formation during alcoholic fermentation of rye and corn mashes, *Pol. Jour. Food and Nutr. Sc.*, 2 (10/51), 19-24, (2001).
- [46] **Mauricio J.C., Moreno J., Zea L., Ortega J.M., Medina M.:** The effects of grape must fermentation conditions on volatile alcohols and esters formed by *Saccharomyces cerevisiae*, *Journ. Sc. Food Agric.*, 75, 155-160, (1997).
- [47] **Oaxaca V.A., Jones L.P.:** Formation of ethanol and higher alcohols by immobilized *Zymomonas mobilis* in continuous culture, *Ac. Biotechn.*, 11 (6), 523-532, (2004).
- [48] **Gordon S.M.:** A revision of the pentanols, *Journ. Americ. Pharm. Assoc.*, 16, 313-322, (2006).
- [49] **Jarosz K.:** Na fuzle należy zwrócić większą uwagę, *Przem. Ferm. Owoc.-Warz.*, 1, 2-4, (1957).
- [50] **Makaev D.M., Ustinikow B.A., Gerduenko T.M.:** Obrazowanie metanola pri pererabotke sacharnoj svezki na spirit, *Ferm. Spirt. Prom.*, 4, 14-16, (1971).
- [51] **Bigelis R., Weir P.D., Jones R.R.M., Umbarger H.E.:** Exogenous Valine Reduces Conversion of Leucine to 3-Methyl-1-Butanol in *Saccharomyces cerevisiae*, *App. Envir. Microbiol.*, 2, 658-664, (1983).
- [52] **Drews B., Specht H., Bärwald G.:** Über die höheren aliphatischen Alkohole im Bier und einige Faktoren zu ihrer mengenmässigen Beeinflussung, *Monatsschr. Braur.*, 6, 101, (1964).
- [53] **Gastor J.G., Guymon J.T.:** On the mechanism of fermentation of higher alcohols during alcoholic formation, *Science*, 115, 147, (1952).
- [54] **Reazin G., Scales H., Andreassen A.:** Mechanism of major congener formation in alcoholic grain fermentations, *J. Agr. Food Chem.*, 18, 535, (1970).
- [55] **Siaskyan N.M., Rodopulo A.K., Jrgorow I.A.:** Mechanism of formation of fusel oils during alcohol fermentation, *Biokhim. Osn. Kon'yachnego Proizwod.*, 29, (1972).

CHARACTERIZATION OF CHEMICAL CONTAMINATION EXISTING IN RAW SPIRITS

Summary

The mechanism and reasons of the by-products formation during the alcohol fermentation, making worse the quality of raw spirits, are discussed basing on the review of available publications. There are presented the factors having the influences as: carbonyl compounds, carboxylic acids, esters, methanol and higher alcohols. Factors, which can cause an exceeding concentration of this groups of compounds in raw spirits are denoted.

Institute of Fermentation Technology and Microbiology
Technical University of Lodz